

Aus der Klinik für Ophthalmologie  
(Direktor Prof. Dr. Johann Roider)  
im Universitätsklinikum Schleswig-Holstein, Campus Kiel  
an der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

**Charakterisierung von Photokoagulationläsionen am  
menschlichen Auge in Abhängigkeit ihres  
Netzhauttemperaturprofils**

Inauguraldissertation  
zur  
Erlangung der Doktorwürde der Medizin  
der Medizinischen Fakultät  
der Christian-Albrechts-Universität zu Kiel

vorgelegt von  
Lea Desirée Schmurr  
aus Speyer

Kiel 2021

1. Berichterstatter:

Prof. Dr. Johann Roider  
Klinik für Ophthalmologie

2. Berichterstatter:

Prof. Dr. Thomas Schwarz  
Klinik für Dermatologie, Venerologie und  
Allergologie

Tag der mündlichen Prüfung:

Kiel, den 23.09.2021

Zum Druck genehmigt:

Kiel, den 03.08.2021

gez.: Prof. Dr. Alexa Klettner  
(Vorsitzende der Prüfungskommission)

# INHALTSVERZEICHNIS

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS	III
1 EINLEITUNG	1
<b>1.1 Allgemeines zur retinalen Photokoagulation</b>	<b>1</b>
1.1.1 Indikation	1
1.1.2 Klinische Durchführung	2
1.1.3 Wirkung, Nebenwirkungen und Dosierungsprobleme	3
<b>1.2 Laserinduzierte Netzhauttemperaturerhöhung</b>	<b>5</b>
<b>1.3 Aktuelle Fortschritte in der retinalen Photokoagulation</b>	<b>6</b>
<b>1.4 Zielsetzung dieser Arbeit</b>	<b>7</b>
2 MATERIAL UND METHODEN	9
<b>2.1 Studie</b>	<b>9</b>
2.1.1 Studiendesign	9
2.1.2 Studienkollektiv	9
<b>2.2 Laserspaltlampe und Technik der optoakustischen Echtzeit-Temperaturmessung</b>	<b>10</b>
<b>2.3 Klinische Studiendurchführung</b>	<b>12</b>
<b>2.4 Bildgebende Verfahren zur Auswertung der Photokoagulationsläsion</b>	<b>14</b>
2.4.1 Fundusfarbfoto	14
2.4.1.1 Kartierung der Photokoagulationsläsion	14
2.4.1.2 Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsion	15
2.4.1.3 Durchmesser der Photokoagulationsläsion	16
2.4.2 Optische Kohärenztomographie (OCT)	17
2.4.2.1 Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsion	18
2.4.2.2 Durchmesser der Photokoagulationsläsion	18
2.4.2.3 Charakterisierung und Beurteilung der Photokoagulationsläsion	19
<b>2.5 Statistik</b>	<b>20</b>

3	ERGEBNISSE	21
3.1	<b>OCT-Schadensklassifikation</b>	<b>21</b>
3.1.1	Definition der OCT-Schadensklassen	22
3.2	<b>Validität der postulierten OCT-Schadensklassifikation</b>	<b>24</b>
3.2.1	Funduskopische Sichtbarkeit	25
3.2.2	Sichtbarkeit in der OCT	26
3.2.3	Greatest linear diameter (GLD)	26
3.2.4	Herdspitzentemperatur	30
3.2.5	Laserleistung	32
3.3	<b>Routine-Photokoagulationsläsionen</b>	<b>33</b>
3.4	<b>Korrelation von GLD und Fundusdurchmesser</b>	<b>34</b>
4	DISKUSSION	35
4.1	<b>Beurteilung der Photokoagulationsläsion</b>	<b>35</b>
4.1.1	Fundusfarbfoto	35
4.1.2	OCT	36
4.2	<b>Optimierungsbedarf bei der retinalen Photokoagulation</b>	<b>39</b>
4.3	<b>Optoakustik in der retinalen Photokoagulation</b>	<b>43</b>
4.4	<b>Aussicht</b>	<b>47</b>
4.5	<b>Aktuelle Therapieverfahren neben der retinalen Photokoagulation</b>	<b>48</b>
5	ZUSAMMENFASSUNG	50
	LITERATURVERZEICHNIS	IV
	ABBILDUNGSVERZEICHNIS	XI
	TABELLENVERZEICHNIS	XII
	DANKSAGUNG	XIII

## ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

ANOVA	Analysis of variance, Varianzanalyse
BVOS	'Branch Vein Occlusion Study'
BM	Bruch-Membran
CVOS	'Central Vein Occlusion Study'
CW	Continuous wave, kontinuierlicher Laserstrahl
DAQ	Data acquisition, Datenerfassung und -aufzeichnung
DOG	Deutsche Ophthalmologische Gesellschaft
ELM	External limiting membrane, äußere Grenzmembran
ETDRS	'Early Treatment Diabetic Retinopathy Study'
EZ	Ellipsoide Zone (ehemals: inner segment-outer segment-junction line; Verbindungsline zw. inneren Segmenten der Photorezeptoren [IS] und OS)
FAG	Fluoreszenzangiographie
GL	Ganglion cell layer, Ganglienzellschicht
GLD	Greatest linear diameter, größter linearer Durchmesser
HSP	Heat shock protein, Hitzeschockprotein
INL	Inner nuclear layer, innere Körnerschicht
IPL	Inner plexiform layer, innere plexiforme Schicht
IR	Infrarot
Nd: YAG-Laser	Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser
MZ	Myoide Zone (ehemals: photoreceptor inner segment [IS])
OCT	Optical coherence tomography, optische Kohärenztomographie
ONL	Outer nuclear layer, äußere Körnerschicht
OPL	Outer plexiform layer, äußere plexiforme Schicht
OS	Photoreceptor outer segment, äußeres Photorezeptorsegment
PASCAL	Pattern scanning laser
PEDF	Pigment epithelium-derived factor
RPE	Retinales Pigmentepithel
S	Photokoagulationsläsion mit ermittelter Schwellenleistung
SD-OCT	Spectral-domain OCT
SRT	Selektive Retina-Therapie
TTT	Transpupilläre Thermotherapie
VEGF	Vascular endothelial growth factor, vaskulär endothelialer Wachstumsfaktor

# 1 EINLEITUNG

## 1.1 Allgemeines zur retinalen Photokoagulation

Die retinale Photokoagulation gewann nach der erstmaligen Beschreibung durch Professor Gerhard Meyer-Schwickerath in den 1940er Jahren und ihrer technischen Vereinfachung nach der Erfindung des Lasers im Jahre 1960 (Laser: Akronym für light amplification by stimulated emission of radiation) in der Augenheilkunde an Bedeutung (Meyer-Schwickerath 1954). Die Anwendung beschränkte sich zunächst auf die Behandlung von Netzhautenrissen. Heute ist die retinale Photokoagulation eine evidenzbasierte Therapie diverser Netzhauterkrankungen wie z. B. der Netzhautischämie bei der diabetischen Retinopathie oder bei retinalen Gefäßverschlüssen (Shah et al. 2011). Der Laser löst durch seinen direkten thermischen Effekt am Ort der Absorption reaktive, biologische Prozesse der Netzhaut aus, die im Anschluss an die retinale Photokoagulation stattfinden und auch in nichtkoagulierten Netzhautbereichen zu einer verbesserten Stoffwechsellage führen (Muqit et al. 2011, Stefánsson 2006). Der Nachweis eines erfolgreichen Therapieeffektes bei der diabetischen Retinopathie konnte in der 'Early Treatment Diabetic Retinopathy Study' (ETDRS) ('Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Group' 1991) erbracht werden. Aussagekräftige Belege für den Nutzen der retinalen Photokoagulation bei retinalen Gefäßverschlüssen zeigten die 'Central Vein Occlusion Study' (CVOS) ('Natural history and clinical management of central retinal vein occlusion. The Central Vein Occlusion Study Group' 1997) und die 'Branch Vein Occlusion Study' (BVOS) ('Argon laser scatter photocoagulation for prevention of neovascularization and vitreous hemorrhage in branch vein occlusion. A randomized clinical trial. Branch Vein Occlusion Study Group' 1986).

### 1.1.1 Indikation

Die retinale Photokoagulation stellt sowohl eine wichtige Therapiesäule bei ischämisch bedingten Netzhauterkrankungen wie der diabetischen Retinopathie, der diabetischen Makulopathie mit klinisch signifikantem Makulaödem als auch bei venösen Gefäßverschlüssen im retinalen Stromgebiet dar. Unbehandelt zählen diese Krankheitsbilder zu den häufigsten Erblindungsursachen weltweit. Auch Netzhautenrisse mit und ohne Netzhautablösung sowie arterielle Makro- und Mikroaneurysmen können mittels einer retinalen Photokoagulation behandelt werden (Framme et al. 2008).

Bei der Versorgung diverser retinaler Erkrankungen (z. B. einem Makulaödem) bestehen mittlerweile alternative medikamentöse Behandlungsmöglichkeiten, die entweder als Monotherapie oder in Kombination mit einer Photokoagulation empfohlen werden. Dazu zählen sowohl intravitreale Injektionen von Steroiden als auch von vascular endothelial growth factor (VEGF-) Hemmstoffen (Shah et al. 2011). Nichtsdestotrotz behält die retinale Photokoagulation als relativ nebenwirkungsarmes, langfristig wirksames und einfach durchzuführendes Therapieverfahren ihre Bedeutung in der klinischen Routine. Die panretinale Photokoagulation gilt nach wie vor als Therapie der ersten Wahl bei der Behandlung der peripher ischämischen Retinopathie und behauptet sich im Vergleich zur anti-VEGF-Behandlung dieser Krankheitsbilder nach neuesten Studienerkenntnissen wegen bedeutender Vorteile (Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al. 2018).

### 1.1.2 Klinische Durchführung

Die retinale Photokoagulation ist in der Regel eine ambulante Behandlung am wachen, sitzenden Patienten. Die Behandlung setzt gewisse Vorbereitungen voraus. Es ist üblich, die Pupille des Patienten medikamentös weit zu tropfen und die Hornhaut durch eine Tropfanästhesie zu betäuben. Zudem wird eine Kontaktglas-Optik mit einem Kontaktgel benetzt, um diese optisch an das Auge zu koppeln. Eine stabile und optimale Positionierung des Patienten vor der Laserspaltlampe ist notwendig. Hierzu legt der Patient sein Kinn in einer Kinnstütze ab und drückt seine Stirn sanft an die vorhandene Stirnstütze. Anschließend setzt der behandelnde Arzt das Kontaktglas auf das zu therapierende Auge auf. Das Kontaktglas enthält eine Optik, mit der der Arzt durch die Spaltlampe Veränderungen am Augenhintergrund erkennen kann. Es erschwert zudem den Lidschluss und dämpft die Augenbewegungen. Während der retinalen Photokoagulation dient es dazu, den Behandlungslaser gezielt auf das gewünschte Netzhautareal zu fokussieren. In der Klinik wird die retinale Photokoagulation in der Regel mit Licht des grünen Wellenlängenbereichs (Argonlaser mit  $\lambda = 514 \text{ nm}$  oder Frequenzverdoppelter Neodym-dotierter Yttrium-Aluminium-Granat-Laser [Nd: YAG-Laser] mit  $\lambda = 532 \text{ nm}$ ) durchgeführt. Die Einstellungen des Lasers (Bestrahlungsdurchmesser, Bestrahlungszeit und Laserleistung) folgen je nach Behandlungsindikation und zu behandelnder Netzhautregion gesonderten Empfehlungen. Gegebenenfalls ist eine Modifikation der Einstellungen zwischen den Einzelexpositionen im Laufe einer Behandlung notwendig. Der vorausgewählte Bestrahlungsdurchmesser des Behandlungslasers liegt üblicherweise zwischen  $50 - 500 \text{ }\mu\text{m}$  bei einer im Voraus festgelegten Bestrahlungszeit zwischen  $20 - 500 \text{ ms}$ . Die

Dosierung der Laserleistung basiert auf der Beurteilung des funduskopisch sichtbaren Effektes der zuvor applizierten Photokoagulationsläsion. Die Intensität der einsetzenden retinalen Weißfärbung wird unmittelbar nach der Applikation der Photokoagulationsläsion durch den Arzt beurteilt. Die Laserleistung wird je nach gewünschter Weißfärbung (abhängig von der jeweiligen Behandlungsindikation und zu behandelnder Netzhautregion) individuell von Photokoagulationsläsion zu Photokoagulationsläsion nachjustiert (übliches Leistungsspektrum zwischen 50 mW – 1 W). Die Anzahl der zu applizierenden Photokoagulationsläsionen variiert – basierend auf indikationsabhängigen Empfehlungen – zwischen wenigen Einzelläsionen und > 1200. Bei der panretinalen Photokoagulation werden beispielsweise mehrere hundert Photokoagulationsläsionen unter räumlicher Aussparung der Makula appliziert (z. B. 300 µm/200 ms). Die zentral fokale Photokoagulation bezeichnet hingegen in der Regel eine Behandlung in der Makula (z. B. 100 µm/100 ms). Dabei gilt zu beachten, dass die Fovea centralis, der Punkt des schärfsten Sehens, mit einem Sicherheitsabstand von einigen Herddurchmessern ausgespart wird.

### 1.1.3 Wirkung, Nebenwirkungen und Dosierungsprobleme

Die Wirksamkeit der retinalen Photokoagulation wurde in diversen Studien belegt.

Der histologische Nachweis, dass Photorezeptoren zerstört werden, stammt aus den 1960er Jahren. Stefánsson et al. erbrachten den Nachweis, dass sich die Gewebeoxygenierung am Augenhintergrund im Anschluss an die Photokoagulationsbehandlung verbessert (Stefánsson et al. 1981). Stefánssons erklärende Theorie besagt, dass sich durch die laserinduzierte Zerstörung metabolisch hochaktiver Photorezeptoren die relative Sauerstoffversorgung im Umgebungsgewebe verbessert (Stefánsson 2006). Muquit et al. konnten mit einer multispektralen Bildgebung die verbesserte Gewebeoxygenierung bestätigen (Muquit et al. 2011). Ein anderes Erklärungsmodell versucht die klinisch gut belegte Photokoagulationswirkung durch ein verändertes Zytokin-Profil in der Retina zu erklären. Die Arbeitsgruppen um Ogata gehen davon aus, dass die positive Wirkung der Photokoagulation unter anderem durch die reduzierte Bildung von Angiogenesefaktoren (VEGF), eine vermehrte Expression des antiangiogenen Zytokin pigment epithelium-derived factor (PEDF) und einer Steigerung der heat shock protein (HSP-) Produktion zu begründen ist (Ogata et al. 2001 a, Ogata et al. 2001 b). Die Wirkungsweise wird jedoch kontrovers diskutiert.

Der Effekt der Photokoagulation wird als zeitabhängige punktuelle Weißfärbung der Netzhaut sichtbar (Weinberg et al. 1981). Die Weißfärbung beruht auf einer Proteindenaturierung mit



darauf folgender Ödembildung, welche durch die thermische Schädigung zustande kommt. Hervorgerufen wird dieser thermische Schaden durch die Absorption der Energie des Lasers in pigmentierten retinalen Strukturen wie dem melaninhaltigen retinalen Pigmentepithel (RPE) und in den Aderhautmelanozyten (Framme et al. 2008). Die absorbierte Laserenergie erzeugt in diesen Pigmenten eine Erwärmung, die anschließend durch die Wärmeleitung in die darüberliegenden Netzhautschichten abgegeben wird.

Schnittstelle dieser physikalisch-biologischen Interaktion ist die lokal erzielte laserinduzierte Temperaturerhöhung in dem bestrahlten Netzhautareal. Die Höhe des Temperaturanstieges und damit einhergehend das Schadensausmaß einer Photokoagulationsläsion (Einzeleffekt) schwankt trotz gleicher Einstellungen der Laserspaltlampe (des Bestrahlungsdurchmessers, der Bestrahlungszeit und der Laserleistung). Diese Effektvariabilität ist sowohl intra- als auch interindividuell zu beobachten und ist von vielen Einflussparametern abhängig (Saeger et al. 2017). Zu diesen Parametern zählen unter anderem intra- und interindividuelle Unterschiede der Netzhautbeschaffenheit wie beispielsweise die Variabilität der Netzhautdicke oder Pigmentierungsunterschiede in zentralen Netzhautbereichen sowie zusätzlich zufällige Pigmentierungsschwankungen um einen Faktor bis zu 3 (Gabel et al. 1978, Sramek et al. 2009). Unabhängig davon beeinflussen veränderte Gewebeeigenschaften z. B. infolge einer pathologischen Stoffwechselsituation den Photokoagulationseffekt. Auch eine unterschiedliche Transmission der Laserstrahlen sowie Unterschiede in der Absorption der Laserenergie in den brechenden Medien Hornhaut, Linse und/oder Glaskörper beeinflussen den Lasereffekt im Zielgewebe (Boettner und Wolter 1962). Diese Einflussparameter variieren von Photokoagulationsläsion zu Photokoagulationsläsion und sind nicht vorhersehbar. Das Schadensausmaß einer Photokoagulationsläsion (Einzeleffekt) ist daher im Vorfeld nicht abschätzbar. Der therapeutische Gesamteffekt ist bei der panretinalen Photokoagulation von der koagulierten Gesamtfläche abhängig. Reduziert man das Schadensausmaß der einzelnen Photokoagulationsläsionen (Einzeleffekt), so muss man eine größere Anzahl an Photokoagulationsläsionen applizieren, um den gleichen therapeutischen Gesamteffekt zu erreichen (Lavinsky et al. 2011). Aufgrund der großen Effektvariabilität der Einzeleffekte kann im Voraus nur eine eingeschränkte Aussage über den erzielten Gesamteffekt getroffen werden.

Da bisher noch keine optimale Methode gefunden wurde, um den lokalen Temperaturanstieg während der retinalen Photokoagulation zu messen, basiert die Dosisregelung der Laserleistung bis dato auf der Beurteilung der funduskopischen Weißfärbung. Üblicherweise werden zwischen 3 – 4 unterschiedlichen Intensitätsstufen von Photokoagulationsläsionen beschrieben (Jain et al. 2008, Palanker et al. 2011). Diese Methode ist sowohl beobachter- als

auch zeitabhängig (Weinberg et al. 1981). Eine objektive Beurteilung ist nicht gewährleistet. Zudem ist eine Beurteilung anhand der Weißfärbung lediglich bei funduskopisch sichtbaren Photokoagulationsläsionen möglich. Unterschwellige, funduskopisch unsichtbare Photokoagulationsläsionen können anhand dieser Methode nicht beurteilt werden. Für die klinische Charakterisierung funduskopisch unsichtbarer Photokoagulationsläsionen gibt es bisher kein standardisiertes Verfahren. Methoden, die gegenwärtig zur Beurteilung herangezogen werden, sind z. B. die Sichtbarkeit im Fundusfarbfoto nach 1 – 2 Stunden (Koinzer et al. 2012 b), die mittelfristige Sichtbarkeit in der Infrarot (IR-) Aufnahme (z. B. nach 1 Monat) (Vujosevic et al. 2010), in OCT-Bildern und/oder die Sichtbarkeit in der Fluoreszenzangiographie (FAG) (Koinzer et al. 2008, Roeder et al. 1999).

Da die Schadensbeurteilung erst nach der Applikation einer Photokoagulationsläsion möglich ist, lässt es sich nicht vermeiden, dass während einer Behandlung auch Über- oder Unterbehandlungen stattfinden. Wegen der relativ großen therapeutischen Breite des Verfahrens führt dies jedoch nicht zu einer Gefährdung des Patienten. Die Behandlung kann mit unerwünschten Nebenwirkungen und Risiken einhergehen:

- Schmerzen (gewebedestruktives Verfahren)
- Hornhautverletzungen durch das Kontaktglas
- Kleine Skotome (Gesichtsfeldausfälle) über jeder Einzelläsion, ausgedehntere Skotome bei Verletzung der retinalen Nervenfaserschicht oder sehr selten zentraler Gesichtsfeldausfall mit Erblindung bei Verletzung der Fovea centralis
- generalisierte Empfindlichkeitsminderung im Gesichtsfeld
- Verschlechterung des Dämmerungs- und Kontrastsehens (Fong et al. 2007)
- Netzhaut- oder Aderhautblutung (Velez-Montoya et al. 2010)
- Netzhautdefekte, Netzhautablösung
- Fortschreiten der Erkrankung trotz Therapie

## **1.2 Laserinduzierte Netzhauttemperaturerhöhung**

Das Schadensausmaß des behandelten Netzhautareals korreliert mit der Bestrahlungszeit der Laserstrahlung und der lokalen laserinduzierten Temperaturerhöhung. Basierend auf der Theorie von Svante August Arrhenius lässt sich dieser Zusammenhang rechnerisch mit der Arrhenius-Gleichung modellieren. Dieser Theorie liegt zugrunde, dass es durch das Einwirken der Laserstrahlung (zeit- und temperaturabhängig) zu einer irreversiblen Gewebeveränderung

kommt. Dieser Vorgang wird als Ratenprozess erster Ordnung beschrieben und postuliert hier vereinfachend ein homogenes Stoffgemisch beziehungsweise einen einzelnen, kritischen Stoff innerhalb des Gewebes. Der Übergang vom unkoagulierten zum koagulierten Zustand unterliegt dann einer temperaturabhängigen Konversionsrate (Birngruber et al. 1985). Sind die Bestrahlungszeit, der Netzhauttemperaturverlauf und andere gewebespezifische Parameter bekannt, so lässt sich das Schadensausmaß rechnerisch bestimmen. Die nicht-invasive Aufzeichnung und die Berechnung des lokalen Netzhauttemperaturprofils während der Applikation einer Photokoagulationsläsion wird durch die Technik der Optoakustik ermöglicht (Kapitel 2.2). Kandulla et al. liefern die theoretische Grundlage zur Berechnung der Netzhauttemperatur aus den Optoakustikdaten (Kandulla et al. 2006).

Im Rahmen der hier durchgeführten klinischen Studie gelang es erstmalig durch eine optoakustische Echtzeit-Temperaturmessung das Netzhauttemperaturprofil des bestrahlten Gewebavolumens während der retinalen Photokoagulation am Patienten aufzuzeichnen (Brinkmann et al. 2012).

### **1.3 Aktuelle Fortschritte in der retinalen Photokoagulation**

Die Wirksamkeit der konventionellen retinalen Photokoagulationsbehandlung ist belegt. Gleichwohl ist umstritten, ob und in wie weit die Retina tatsächlich sichtbar – im Sinne einer Weißfärbung – geschädigt werden muss, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen.

Die Arbeitsgruppe um Lanzetta kommt zu dem Ergebnis, dass funduskopisch unsichtbare Photokoagulationsläsionen ausreichen, um einen gewünschten therapeutischen Effekt bei der panretinalen Photokoagulation zu erzielen (Lanzetta et al. 2001). Auf dieser These baut eine Reihe kleinerer Pilotstudien auf. Sie zeigen, dass Photokoagulationsläsionen unterhalb beziehungsweise um die funduskopische Sichtbarkeitsschwelle herum effektiv sein können (Bandello et al. 2001, Klatt et al. 2011, Koinzer et al. 2008, Lavinsky et al. 2011, Roider et al. 2010).

Sowohl der Einsatz einer gepulsten Laserstrahlung im Mikrosekundenbereich als auch die selektive Retina-Therapie (SRT) erlauben es, den Schaden des Einzeleffektes zu minimieren und dadurch z. B. Schmerzen zu reduzieren (Roider et al. 1999). Allerdings bieten diese Verfahren bisher keine überzeugende Kontrolle der Laserdosis, die das therapeutische Fenster unterhalb der funduskopischen Sichtbarkeit aber oberhalb der thermischen Wirkungsschwelle, zuverlässig erreicht (Brinkmann et al. 2006).

Eine in der Klinik erfolgreich angewandte technische Innovation der letzten Jahre ist der Patternlaser (PASCAL [ $\triangleq$  pattern scanning laser] und andere), welcher anstelle einzelner Photokoagulationsläsionen ganze Muster (bis zu 25 Photokoagulationsläsionen) appliziert (Blumenkranz et al. 2006, Rüfer et al. 2008). Die Behandlungsdauer jeder Photokoagulationsläsion wird dabei verkürzt (10 – 30 ms), sodass alle Photokoagulationsläsionen eines Musters nacheinander schneller appliziert werden, als eine Augenbewegung (circa 500 ms) erfolgt. Dieses Verfahren ermöglicht neben der Beschleunigung der Behandlung auch eine Schmerzreduktion (Muqit et al. 2010, Nagpal et al. 2010). Um die gewünschten Effekte zu erzielen, muss bei verkürzten Bestrahlungszeiten eine höhere Laserleistung gewählt werden. Ein Problem liegt darin, dass die Laserleistung nicht nach jeder Photokoagulationsläsion, sondern erst nach jedem Pattern nachjustiert werden kann. Daraus ergibt sich ein gesteigertes Risiko einer Überbehandlung/Unterbehandlung, da nicht alle Netzhautstellen gleich pigmentiert sind und die therapeutische Breite des Verfahrens mit abnehmender Bestrahlungsdauer schrumpft (Jain et al. 2008, Mainster 1999). Des Weiteren ist das Verfahren der Patternapplikation empfindlicher gegen Defokussierung, da auf dem kugelsektorförmigen Augenhintergrund unter Umständen nicht das ganze Pattern gleichmäßig scharf abgebildet werden kann. Andererseits bieten korrekt dosierte, kurz exponierte Photokoagulationsläsionen den Vorteil einer sehr homogenen Temperaturverteilung im Bestrahlungsareal und damit eine gute Voraussetzung für eine kontrollierte sowie gleichmäßige Wundheilung (Mainster 1999, Nagpal et al. 2010, Palanker et al. 2011).

#### **1.4 Zielsetzung dieser Arbeit**

Mittels optoakustischer Echtzeit-Temperaturmessung wird eine sehr viel präzisere Ansteuerung von Photokoagulationsintensitäten als bisher möglich angestrebt. Wir suchen nach einer wenig invasiven, präzisen Effektbeschreibung, welche die bisher übliche, wenig objektive Klassifikation nach funduskopischer Sichtbarkeit ersetzt und auch unterschwellige, am Fundus unsichtbare Läsionen sicher erfassen kann. Im Rahmen dieser Arbeit wird die Charakterisierung von Photokoagulationsläsionen mithilfe einer hochauflösenden in vivo Bildgebung (optical coherence tomography [OCT], optische Kohärenztomographie) der Retina angestrebt. Folgende Fragen sollen in dieser Arbeit beantwortet werden:

1. Kann in der OCT das gesamte Intensitätsspektrum der applizierten Photokoagulationsläsionen (von funduskopisch unsichtbar bis hin zu moderat weiß gefärbt) detektiert und charakterisiert werden?
2. Wie ist der Zusammenhang zwischen der lokal erzielten Netzhauttemperatur und der Schadensmorphologie in der OCT? Wo liegt die Temperaturschwelle für das Sichtbarwerden einer Photokoagulationsläsion in der OCT?

Das Ziel dieser Arbeit ist auch, die Dosis-Wirkung-Beziehung von Photokoagulationen besser zu verstehen. Wir erhoffen mit diesen Erkenntnissen einen Beitrag zur Optimierung der retinalen Photokoagulation zu leisten. Das langfristige Ziel besteht darin, einen idealen therapeutischen Effekt zu erzielen, und zeitgleich die Nebenwirkungen auf ein Minimum zu reduzieren.

## 2 MATERIAL UND METHODEN

### 2.1 Studie

#### 2.1.1 Studiendesign

Es wurde eine prospektive nicht-interventionelle Studie an 20 Patienten durchgeführt, bei denen erstmalig eine retinale Photokoagulation indiziert war. Die klinische Untersuchung und ärztliche Indikationsstellung erfolgte routinemäßig in der Polikliniksprechstunde der Universitätsklinik für Ophthalmologie in Kiel. Bei geeigneten Probanden erfolgte im Anschluss an die Vorstellung der Studie eine ausführliche Aufklärung des Patienten. Nach der Erteilung des schriftlichen Einverständnisses zur Behandlung und zur Studienteilnahme schloss sich nach mindestens 24-stündiger Bedenkzeit die erste Sitzung der Studienbehandlung gemäß den Leitlinien der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft (DOG) an ('[Recommendation of the Retinological Society, the German Ophthalmological Society and the Professional Association of Ophthalmologists in Germany]' 2011, ['Statement of the German Ophthalmological Society, the Retinological Society and the Professional Association of German Ophthalmologists on therapy für macular oedema in cases of retinal vein occlusion]' 2010). Unabhängig von der Photokoagulationsbehandlung nach klinischem Standard wurden an jedem Studienteilnehmer einige Photokoagulationsläsionen entsprechend dem Studienprotokoll appliziert. Alle Behandlungen erfolgten durch denselben Arzt (SK). Die Studie folgt den Vorgaben der Deklaration von Helsinki. Sie wurde von der Ethikkommission der Christian Albrechts Universität zu Kiel positiv bewertet (AZ A 105/10).

#### 2.1.2 Studienkollektiv

Das Studienkollektiv umfasst 20 Patienten mit der Erstindikation zu einer retinalen Photokoagulation (fokale und/oder panretinalen Photokoagulation). Vorausgesetzt wurden zudem die Volljährigkeit und die volle Geschäftsfähigkeit.

Ausschlusskriterien waren: eingeschränkte Geschäftsfähigkeit, starker Tremor, Unfähigkeit zu sitzen, Erkrankungen der Hornhaut, Medientrübung oder enge Lidspalte.

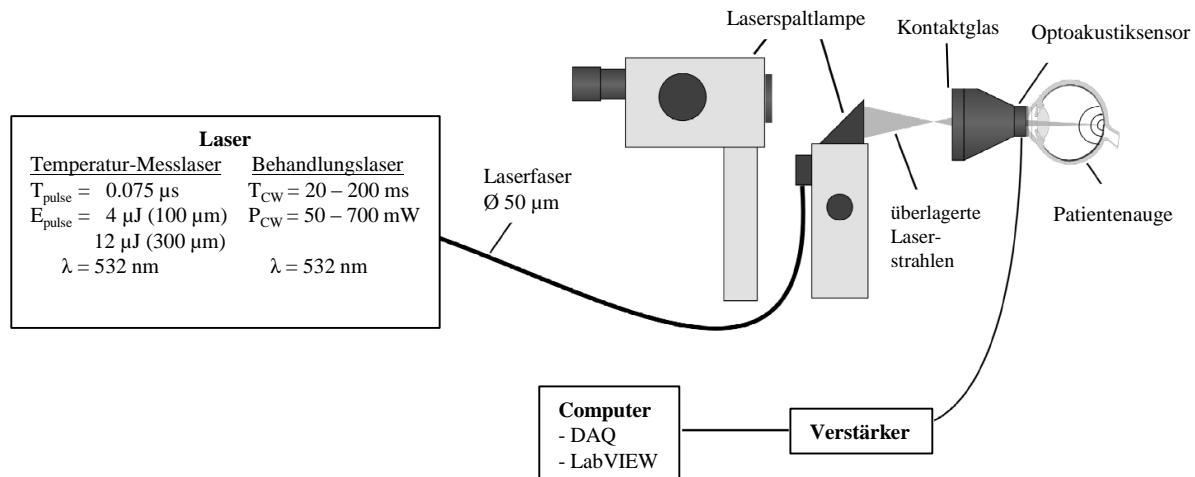
Es konnten 8 Frauen und 12 Männer im Alter zwischen 29 – 77 Jahren für die Studie rekrutiert werden. Bei 16 von 20 Patienten wurde die Indikation zur retinalen Photokoagulation aufgrund einer diabetischen Retinopathie gestellt. Bei 4 von diesen 16 Patienten lag zusätzlich

eine diabetische Makulopathie vor. 3 von 20 Patienten hatten einen ischämisch retinalen Venenverschluss. Bei einem Patienten wurde eine okklusive retinale Vaskulitis diagnostiziert.

## **2.2 Laserspaltlampe und Technik der optoakustischen Echtzeit-Temperaturmessung**

In dieser Studie wurde eine konventionelle Laserspaltlampe (Carl Zeiss Meditec AG, LSL 130) mit einem modifizierten Laser der Firma Carl Zeiss Meditec AG aus Jena, Deutschland (Geräteprototyp VISULAS VITE 532s) benutzt. Das Gerät ermöglichte eine Überlagerung von continuous wave (CW-) Behandlungslaserstrahlung (kontinuierlicher Laserstrahl) mit gepulster Messlaserstrahlung zur optoakustischen Echtzeit-Temperaturmessung (beide mit  $\lambda = 532 \text{ nm}$ ). Im Weiteren bezieht sich der Begriff Behandlungslaser auf die CW-Laserstrahlung und der Begriff Temperatur-Messlaser auf die gepulste Laserstrahlung. Die durchschnittliche Leistungsabgabe der modifizierten Lasertechnik entsprach der des Standardgerätes. Die zur Behandlung notwendige CE- Zertifizierung war gegeben.

Zum technischen Versuchsaufbau (Abbildung 1) gehörte ein Computer, der per Kabel über einen Verstärker mit einem optoakustischen Sensor im Kontaktglas verbunden war (Mainster Modell OMRA-S modifiziert durch das medizinische Laserzentrum Lübeck GmbH (MLL); Ansichtsvergrößerung des Fundusbildes x 0,96; Vergrößerung des eingestrahnten Laserstrahls x 1,05; Blickwinkel 90 – 120°) und mit einer digitalen Mess- und Aufzeichnungstechnik ausgestattet war. Die optoakustischen Temperaturmessungen erforderten eine optoakustische Signalkalibrierung, die spezifisch für die lokal zu behandelnde Netzhautregion war. Diese Signalkalibrierung wurde über 20 ms vor jeder Bestrahlung mit dem Behandlungslaser (Applikation einer Photokoagulationsläsion) durchgeführt. Während der Kalibrierungsphase korrespondierte das optoakustische Signal mit der Netzhauttemperatur, welche annähernd der Körperkerntemperatur entsprach. War diese Signalkalibrierung abgeschlossen, wurde der Behandlungslaser eingeschaltet. Zeitgleich wurden mit einer Frequenz von 1 kHz die unschädlichen Temperatur-Messlaserpulse ausgesendet. Jeder dieser Pulse führte zu einer lokalen thermoelastischen Gewebeexpansion des bestrahlten Netzhautareals und erzeugte sogenannte thermoelastische Schallwellen (Sigrist 1986), welche sich bis an die Augenoberfläche ausbreiteten und dort von dem Optoakustiksensord erfasst wurden. Diese optoakustischen Signale wurden an einen Verstärker weitergeleitet. Die elektrisch verstärkten Signale wurden durch einen Computer digital aufgezeichnet und an die Projektpartner in Lübeck übermittelt. Die Analyse und Auswertung dieser Daten erfolgte durch unsere Kooperationspartner, das MLL und das Institut für Biomedizinische Optik in Lübeck (BMO).



**Abbildung 1: Versuchsaufbau zur optoakustischen Echtzeit-Temperaturmessung**

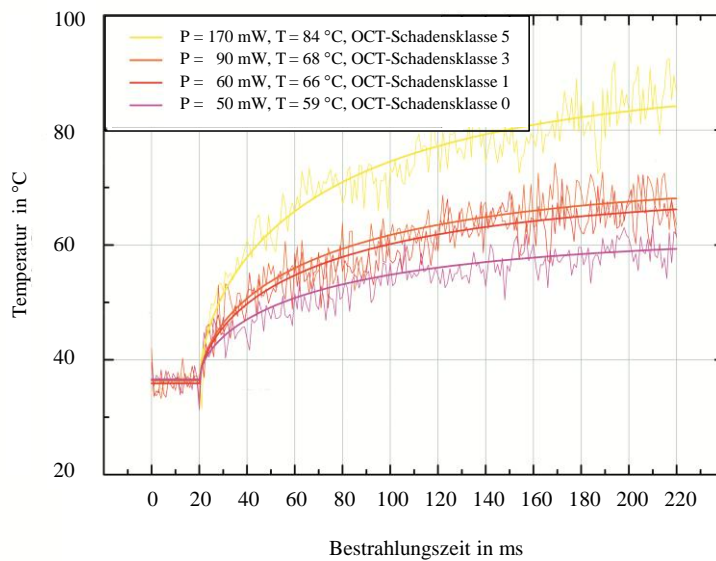
In der Laserfaser (in der Bildmitte dargestellt) wird die gepulste Temperatur-Messlaserstrahlung (pulse) und die kontinuierliche Behandlungslaserstrahlung (CW) von der Laserstrahlquelle an die Laserspaltlampe weitergeleitet. Die technischen Daten der Laser sind in dem Kasten auf der linken Bildseite aufgelistet: Bestrahlungsdauer (T in s), Bestrahlungsleistung (P in W), Pulsenergie der Temperatur-Messlaserstrahlen (E in J), Wellenlänge ( $\lambda$  in m).

Die Laserstrahlung wird von dem Arzt mithilfe eines an die Augenoberfläche gekoppelten Kontaktglases (rechts im Bild dargestellt) an die zu behandelnde Netzhautstelle geleitet. Die Strahlung des Behandlungslasers erzeugt eine Photokoagulationsläsion. Die unschädliche, gepulste Temperatur-Messlaserstrahlung induziert währenddessen sogenannte thermoelastische Schallwellen, die von dem im Kontaktglas eingebetteten Optoakustiksensord erfasst werden. Die optoakustischen Signale werden über ein Kabel an einen Computer weitergeleitet. Dort erfolgt die Datenerfassung und -aufzeichnung (data acquisition, [DAQ]; CompuScope 8347, Gage Applied Technologies) und Temperaturberechnung mittels einer selbst programmierten LabView®-Routine (laboratory virtual instrumentation engineering workbench).

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2012 a.

Unsere Projektpartner berechneten aus den optoakustischen Amplitudenänderungen das 4-dimensionale Netzhauttemperaturprofil im zeitlichen Verlauf jeder Photokoagulationsbestrahlung (Abbildung 2) und innerhalb des erwärmten Netzhaut-Volumens. Unter Berücksichtigung des Gewebeexpansionskoeffizienten konnten sie die Herdspitzentemperatur jeder einzelnen Photokoagulationsläsion, die sich in räumlicher Hinsicht auf das Läsionszentrum im RPE und in zeitlicher Hinsicht auf das Ende des Bestrahlungsvorgangs beziehen, errechnen (Sigrist 1986, Kandulla et al. 2006). Eine detailliertere Beschreibung der Technik der Optoakustik und Informationen zum technischen Hintergrund der optoakustischen Echtzeit-Temperaturmessung wurden von unseren Projektpartnern an anderer Stelle publiziert (Brinkmann et al. 2012).





**Abbildung 2: Netzhauttemperaturprofil**

Die Abbildung zeigt Netzhauttemperaturprofile von Beispiel-Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklassen 0, 1, 3 und 5 im Verlauf einer 200 ms andauernden Bestrahlung mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$ . In dem Kasten werden zusätzliche Informationen zu den Photokoagulationsläsionen angegeben: Bestrahlungsleistung (P in W), Herdspitzentemperatur (T in  $^{\circ}\text{C}$ ).

Die Kurven der Echtzeit-Temperaturmessungen bilden zunächst den Signalkalibrierungs-Vorgang (mit der unschädlichen, gepulsten Temperatur-Messlaserstrahlung) ab. Nach dieser 20 ms dauernden Referenzmessung wird zusätzlich die CW-Behandlungslaserstrahlung ausgesendet. Die dünnen Linien entsprechen den optoakustischen Rohsignalen, wohingegen die dicken Linien die rechnerisch angepassten Kurven der zu erwartenden Temperaturverläufe darstellen (entsprechend der Wärmeleistungsgleichung, ohne Signalrauschen).

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2012 a.

### 2.3 Klinische Studiendurchführung

Vor jeder Studienbehandlung wurde die Körpertemperatur des Patienten gemessen. Ihre Kenntnis war notwendig, um aus den relativen optoakustischen Signaländerungen die Netzhauttemperatur berechnen zu können. Zur Weitstellung der Pupille des Patienten wurden mydriatisierende Augentropfen verabreicht (Tropicamid 5 % und Phenylephrin 5 %). Mit einer Farbfunduskamera (Zeiss FF450 plus Farbfunduskamera, Carl Zeiss Meditec AG, Jena, Deutschland) und mit der spectral-domain (SD-) OCT (Spectralis<sup>®</sup> OCT Heidelberg Engineering, Heidelberg, Deutschland) erfolgten dann die Aufnahmen des Studienareals. In der Regel handelte es sich um ein Areal nasal der Sehnervpapille. Die Farbfunduskamera erstellte ein Fundusfarbfoto mit einem Blickwinkel von  $15^{\circ} \times 20^{\circ}$  (vertikal x lateral), die SD-OCT erzeugte IR-Übersichtsbilder und engmaschige OCT-Schnittbilder (Kapitel 2.4.2).

Anschließend erfolgte die Lokalanästhesie der Augenoberfläche in Form einer Tropfanästhesie mit Tetracain (5 %). Nach optimaler Positionierung des Patienten vor der Laserspaltlampe

(Abbildung 3) setzte der Arzt das Kontaktglas auf das Auge, welches vorab mit einem Kontaktgel (Methylcellulosegel 2 %) benetzt wurde. Daraufhin begann die Studienbehandlung.



**Abbildung 3: Typisches Setting einer retinalen Photokoagulationsbehandlung**

Ein Patient sitzt mit weit getropftem Auge vor einer Laserspaltlampe. Der Arzt sitzt dem Patienten gegenüber und setzt das Kontaktglas auf die betäubte Augenoberfläche des linken Auges.

Die ersten 4 Patienten erhielten eine zentrale und panretinale Studienbehandlung entsprechend dem ETDRS-Protokoll, welche dann mittels spezieller Studienbildgebung und Temperatur analysiert wurden:

Dabei wurden Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  und einer Bestrahlungszeit von 100 ms – wie sie in der Klinik für die zentral fokale Photokoagulationsbehandlung gebräuchlich sind – appliziert. Die Laserleistung wurde so gewählt, dass eine schwach sichtbare Weißfärbung des behandelten Netzhautareals zu sehen war. Insgesamt wurden bei den ersten 4 Patienten 47 Photokoagulationsläsionen mit diesen Parametern appliziert. Gemäß den Behandlungsempfehlungen für eine panretinale Photokoagulation wurden den ersten 4 Patienten zusätzlich insgesamt 80 Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$  und einer Bestrahlungszeit von 200 ms appliziert. Die Dosierung der Laserleistung wurde so gewählt, dass eine moderate Weißfärbung des behandelten Netzhautareals entstand.

Allen anderen Studienpatienten (Patient 5 – 20) wurden ergänzend zu den klinischen Standardläsionen 20 – 30 Studienläsionen appliziert. Dabei variierte der Arzt systematisch die Parameter Bestrahlungsdurchmesser (100  $\mu\text{m}$  oder 300  $\mu\text{m}$ ) und Bestrahlungszeit (20 ms, 50 ms, 100 ms und 200 ms). Die Laserleistung wurde nahe der individuellen Leistungsschwelle der sofortigen funduskopischen Sichtbarkeit gewählt. Dazu werden – wie klinisch üblich – Titrationsläsionen außerhalb des Studienareals appliziert. Ausgehend von dieser ermittelten Schwellenleistung wurde anschließend eine Bestrahlungsserie in der Regel 5 Photokoagulationsläsionen mit ansteigender Leistung (S, S + 1, S + 2, S + 3, S + 4) und 5 mit absteigender Leistung (S, S - 1, S - 2, S - 3, S - 4) appliziert. Die Anpassung der Laserleistung

erfolgte von der Schwelle (S) ausgehend entsprechend den vom Gerät vorgegebenen Schrittgrößen (50 – 200 mW: 10 mW-Schritte; 200 – 500 mW: 20 mW-Schritte; > 500 mW: 50 mW-Schritte). Gemäß dem Studienprotokoll wurden im Rahmen dieser systematischen Parametervariationen insgesamt 435 Photokoagulationsläsionen appliziert.

Für Dokumentationszwecke wurde zu jeder Photokoagulationsläsion der dazugehörige Datensatz in einer Tabellenkalkulationssoftware (Microsoft Excel<sup>®</sup>) festgehalten. Diese Datenzusammenfassung beinhaltete die Nummer der Photokoagulationsläsion, den Bestrahlungsdurchmesser, die Bestrahlungszeit sowie die Laserleistung der entsprechenden Photokoagulationsläsion und andere Parameter zur Identifikation der Läsionen innerhalb der Studie.

Im 6-monatigen Studienverlauf wurde die Tabelle mit weiteren relevanten Parametern vervollständigt (Herdspitztemperatur, Sichtbarkeit im Fundusfarbfoto und in der OCT, Fundusdurchmesser, größter linearer Durchmesser [GLD] in der OCT).

## **2.4 Bildgebende Verfahren zur Auswertung der Photokoagulationsläsion**

In der klinischen Praxis sind die Bildgebungen mit der Farbfunduskamera, der Infrarot-Kamera sowie dem OCT-Gerät, einfache, nicht-invasive, schmerzfreie Methoden, um den Augenhintergrund zu beurteilen. Bei all diesen Verfahren sitzt der Patient möglichst mit geweiteter Pupille vor dem entsprechenden Untersuchungsgerät.

Für Dokumentationszwecke wurden mittels dieser Verfahren Bilder des Studienareals vor der Studienbehandlung sowie 1 Stunde, 1 Woche, 1 Monat, 3 Monate und 6 Monate nach der Studienbehandlung angefertigt und abgespeichert. Im Folgenden wird die Vorgehensweise der Identifizierung und Charakterisierung der Photokoagulationsläsion in den unterschiedlichen Verfahren beschrieben.

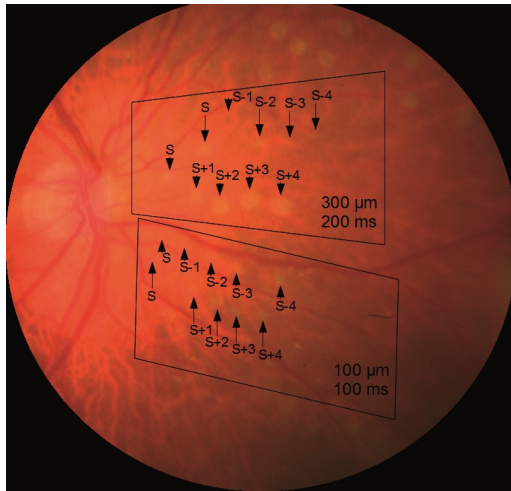
### **2.4.1 Fundusfarbfoto**

Das Fundusfarbfoto diente der Kartierung der Photokoagulationsläsion, der Überprüfung der Sichtbarkeit und der Beurteilung der funduskopischen Schadensausdehnung.

#### **2.4.1.1 Kartierung der Photokoagulationsläsion**

Für Dokumentationszwecke wurden alle 562 Photokoagulationsläsionen kartographiert. Dazu markierte der Arzt direkt nach der Applikation einer Photokoagulationsläsion die Netzhaut-

stelle auf einem Fundusfarbfoto-Ausdruck, welches vorab vom Studienareal angefertigt wurde. Später wurden die Photokoagulationsläsionen auf einem digitalen Fundusfarbfoto, welches 1 Stunde nach der Behandlung aufgenommen worden war und alle sichtbar gewordenen Läsionen zuverlässig erkennen ließ, digital kartographiert (Abbildung 4). Falls erforderlich, etwa bei funduskopisch unsichtbaren Läsionen, wurde die OCT-Bildgebung zum Abgleich der korrekten Lokalisierung hinzugezogen.



**Abbildung 4: Kartiertes Fundusfarbfoto**

Darstellung zweier Bestrahlungsserien (1 Stunde nach der Behandlung).

Oberes Rechteck: Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300 µm und einer Bestrahlungszeit von 200 ms.

Unteren Rechteck: Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100 µm und einer Bestrahlungszeit von 100 ms.

1. Reihe in einem Rechteck: Photokoagulationsläsionen mit absteigender Laserleistung (v. l. n. r.).

2. Reihe in einem Rechteck: Photokoagulationsläsionen mit aufsteigender Laserleistung (v. l. n. r.).

S  $\triangleq$  Photokoagulationsläsion mit ermittelter Schwellenleistung

Abbildung aus Koinzer et al. 2012 a.

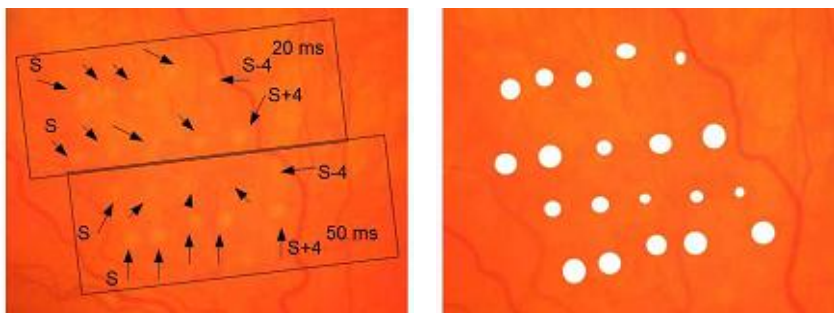
#### 2.4.1.2 Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsion

Anstelle der in der Klinik gebräuchlichen Schadenseinteilung, nämlich der funduskopisch unmittelbar sichtbaren Weißfärbung, welche üblicherweise nach 3 Sekunden dokumentiert wird, wurde die Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsion im Fundusfarbfoto 1 Stunde nach der Behandlung überprüft. Dies diente dazu, die Sichtbarkeitsschwelle zu erfassen, welche nach längerer Latenz niedriger liegt. Um die Sensitivität der Sichtbarkeit zu erhöhen, wurde die Bildqualität durch digitale Vergrößerung am Computerbildschirm und Kontrastverstärkung optimiert. Eine Photokoagulationsläsion wurde als sichtbar gewertet, sofern mindestens

2 von 3 unabhängigen Untersuchern diese unter den optimierten Bedingungen als sichtbar beurteilten.

#### 2.4.1.3 Durchmesser der Photokoagulationsläsion

Die Vermessung des Fundusdurchmessers erfolgte mit dem Bildbearbeitungsprogramm GIMP (GNU image manipulation program, Version 2). Um die Ausdehnung der fundusko-  
pisch sichtbaren Photokoagulationsläsion (1 Stunde nach der Behandlung) zu messen, wurde das weißlich verfärbte Netzhautareal inklusive der sich darum befindenden gräulichen Denaturierungszone manuell umrandet und ausgeschnitten (Abbildung 5). Der ausgeschnittene Flächeninhalt (Pixelzahl) wurde mit Hilfe der Software ImageJ semiautomatisch gemessen. Auf Grundlage der Angaben des Kameraherstellers erfolgte dann die Berechnung der Läsionsfläche (Skalierungsfaktor von  $4,385\text{ }\mu\text{m}$  pro Pixel bei einem Aufnahmewinkel von  $50^\circ$ ). Aus dem Flächeninhalt wurde unter der Annahme einer idealen kreisförmigen Photokoagulationsläsion über die Auflösung der Kreisflächenformel den Fundusdurchmesser jeder Photokoagulationsläsion berechnet, um diesen sinnvoll in Beziehung zum Bestrahlungsdurchmesser setzen zu können. Zur Bestimmung der Fundusdurchmesser erfolgte die Vermessung jeder Photokoagulationsläsion durch 3 unabhängige Untersucher. Als Durchmesser wurde der Mittelwert der 3 Messungen verwendet. Extremwerte einer der 3 Untersucher wurden nicht berücksichtigt (wenn der Median mehr als 10 % vom Mittelwert abwich).



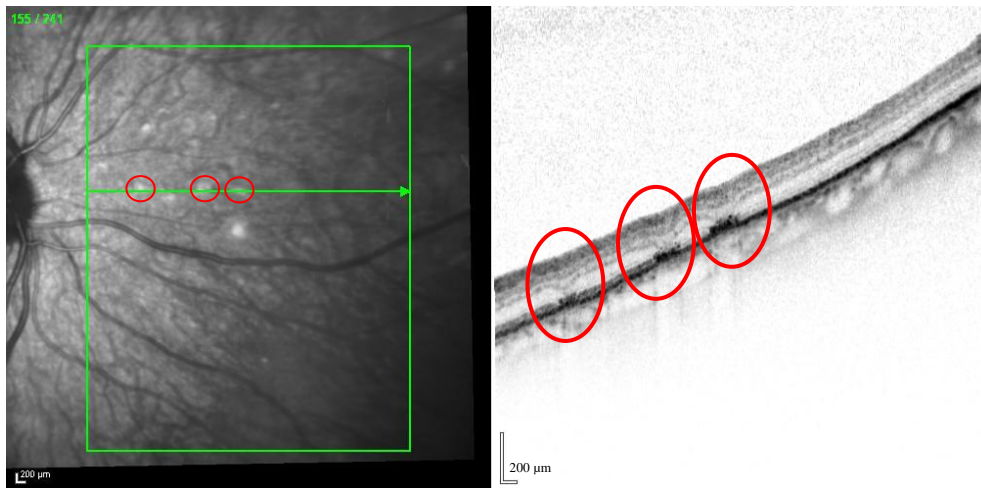
**Abbildung 5: Bestimmung des Fundusdurchmessers der Photokoagulationsläsionen**

Das linke Bild zeigt die Photokoagulationsläsionen im Fundusfarbfoto 1 Stunde nach der Behandlung. Mit Pfeilen wird auf die kartierten Photokoagulationsläsionen hingewiesen.

Das Bild auf der rechten Seite zeigt den gleichen, etwas vergrößerten Bildausschnitt. Die Photokoagulationsläsionen sind ausgeschnitten. Dies dient dazu, die Photokoagulationsflächen auszumessen, anhand derer man den Fundusdurchmesser berechnet.

#### 2.4.2 Optische Kohärenztomographie (OCT)

Das Spectralis® OCT ist eine multimodale Bildgebungsplattform für den Augenhintergrund. Das Gerät ermöglicht unter anderem simultan topographische Aufnahmen des Augenhintergrundes (IR-Übersichtsaufnahmen) und tomographische Bilder der Netzhaut (OCT-Schnittbilder) zu erstellen (Abbildung 6). Für diese Arbeit wurden zu verschiedenen Evaluationszeitpunkten OCT-Schnittbilder aufgezeichnet.



**Abbildung 6: IR-Übersichtsaufnahme und OCT-Schnittbild v. l. n. r.**

Die auf der linken Seite dargestellte IR-Aufnahme zeigt in der Aufsicht die in diesem Netzhautausschnitt applizierten Photokoagulationsläsionen. Die grüne Linie mit dem Pfeil markiert dabei die Ebene, welche das OCT-Schnittbild auf der rechten Seite darstellt. Die Maßstabsleiste befindet sich in der linken unteren Ecke des jeweiligen Bildes.

Bei den OCT-Schnittbildern handelt es sich um hochaufgelöste optische Scans der retinalen Schichten in Graustufendarstellung. Die Netzhaut wurde in der Regel in waagrechten Schnittebenen abgebildet, welche in Abständen von 30 µm über das gesamte Studienareal aufgenommen wurden ( $\cong$  1 OCT-Schnittbildebene). Bei Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100 µm waren diese auf mindestens 3 OCT-Schnittebenen zu erwarten. Die axiale Bildauflösung des Spectralis® OCT liegt bei idealen Bedingungen unter 5 µm. Eine Vielzahl nebeneinander liegender Einzelaufnahmen lassen sich, ähnlich einem aus A-Scans zusammengesetzten B-Scan im Ultraschall, zu einem 2-dimensionalen Schnittbild zusammensetzen, aus denen sich wiederum ein 3-dimensionales Netzhautmodell bilden lässt. So wird eine detaillierte 3-dimensionale Beurteilung der Netzhaut möglich (Dicke, Schichten, Reflektivitätsänderungen). Aufgrund der physikalischen Eigenschaften des OCT-Gerätes ist die axiale Auflösung um das 4-fache größer als die laterale, was in einer pixeltreuen Darstellung zu einer 4-fach überhöhten Darstellung der Netzhaut führt. Unter Nutzung der Eye-

Tracking Funktion (Blickbewegungsregistrierung) des Spectralis® Gerätes wurden von jeder OCT-Schnittbildebene 20 repetitive Scans aufgenommen, deren Mittelung zu einer Verbesserung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses (um die Quadratwurzel der Scananzahl) führt.

Das Spectralis® OCT verfügt über eine automatische Follow-up (Nachverfolgungs-) Funktion. Diese garantiert zusammen mit der Technologie des Eye-Trackings und des AutoRescans™ (automatisches, wiederholtes Absuchen) eine automatische Längsschnittuntersuchung derselben Netzhautschnittebene zu verschiedenen Zeitpunkten. Auf diese Weise war es möglich, während des Follow-ups, Photokoagulationsläsionen an jeweils derselben Stelle zu visualisieren und dieselbe Stelle auch in der Baseline-Untersuchung, die vor der Behandlung aufgenommen wurde, wiederzufinden.

#### 2.4.2.1 Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsion

Durch die Gegenüberstellung von OCT-Schnittbild und der IR-Übersichtsaufnahme konnten die Photokoagulationsläsionen korrespondierend zum digital kartierten Fundusfarbfoto im IR-Bild identifiziert und deren Sichtbarkeit in einer passenden OCT-Schnittbildebene bewertet werden. Für die Bewertung wurde die Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsion im OCT-Schnittbild 1 Stunde nach der Behandlung herangezogen.

Vereinzelt war die Bildqualität der Aufnahme nach 1 Stunde eingeschränkt und eine eindeutige Identifikation nicht möglich. Ursächlich hierfür waren unter anderem die Reduktion der Hornhauttransparenz durch ein reaktives Gewebeödem mit Transparenzminderung und die Unebenmäßigkeit der Hornhaut durch Reste des Kontaktgels. In diesen Fällen erfolgte die Zuordnung auf Basis späterer OCT-Schnittbilder. Es wurde auf die Follow-up Funktion des OCT-Gerätes zurückgegriffen.

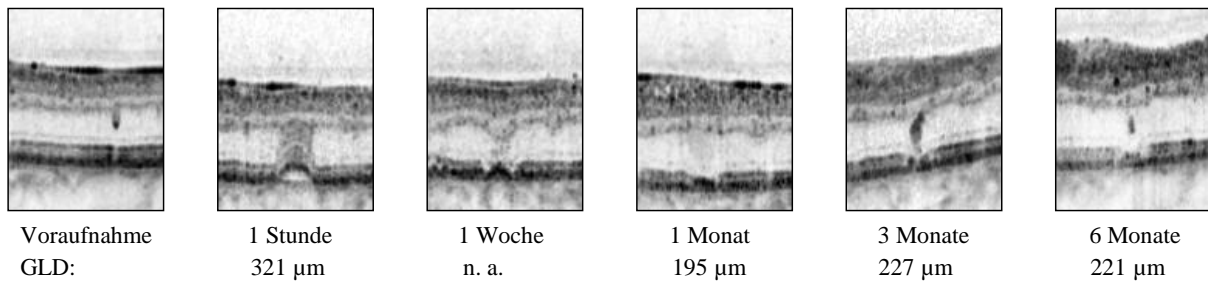
#### 2.4.2.2 Durchmesser der Photokoagulationsläsion

Die Auswertung des mikrostrukturellen Schadensdurchmessers als 'GLD' der Photokoagulationsläsion erfolgte ebenfalls anhand der OCT-Schnittbilder, die 1 Stunde nach der Behandlung aufgenommen wurden. Ausgewählt und archiviert wurde die OCT-Schnittbildebene mit dem GLD auf Niveau der ellipsoiden Zone (EZ) (Staurenghi et al. 2014). Die manuelle Messung erfolgte in der Spectralis® Gerätesoftware durch 3 unabhängige Untersucher in maximaler Bildvergrößerung (8-fach) und wurde in einer größenrichtigen 1 : 1 µm Darstellung vorgenommen.

#### 2.4.2.3 Charakterisierung und Beurteilung der Photokoagulationsläsion

Die Photokoagulationsläsionen wurden aus der OCT-Schnittbildebene mit dem GLD in einem Bildausschnitt von 100 x 130 Pixel digital ausgeschnitten. Dies erfolgte mit dem Bildbearbeitungsprogramm (GIMP 2). Im zeitlichen Verlauf der Studie erhielten wir somit 6 OCT-Bildausschnitte (Abbildung 7), welche in Kollagen zusammengefügt und mit den numerischen Parametern ergänzt wurden (Microsoft PowerPoint®), sodass für jede Läsion eine Art vollständiger Steckbrief entstand.

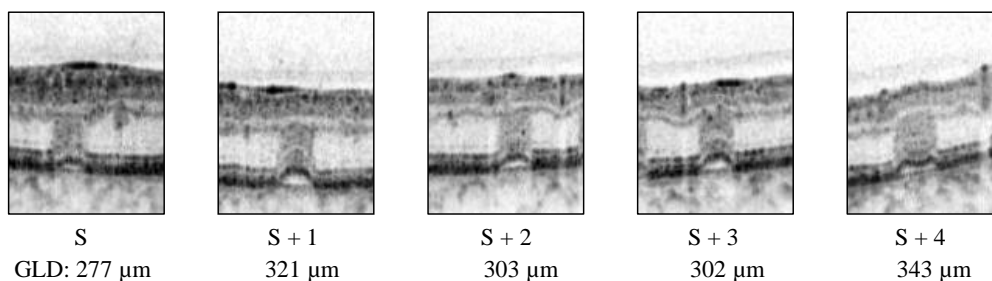
Die OCT-Bildausschnitte der Photokoagulationsläsionen nach 1 Woche (wie in Abbildung 7 zu sehen) dienten zur Unterscheidung zwischen den OCT-Schadenklassen 0 und 1 (Kapitel 3.1). Eine GLD-Vermessung fand nicht statt.



**Abbildung 7: OCT-Bildausschnitte der Photokoagulationsläsion Nr. 64 (S + 1) im zeitlichen Verlauf der Studie mit Angabe der greatest linear diameters (GLDs)**

Bestrahlungsdurchmesser: 300 µm, Bestrahlungszeit: 50 ms, n. a.  $\triangleq$  nicht ausgewertet

Zusätzlich erfolgte eine graphische Datenzusammenfassung von Photokoagulationsläsionen jeder Bestrahlungsserie (S – S + 4) mit Angabe der GLDs (vergleiche Abbildung 8). Diese ermöglichte den direkten Vergleich von Photokoagulationsläsionen mit gleichem Bestrahlungsdurchmesser und gleicher Bestrahlungszeit, jedoch mit auf- beziehungsweise absteigender Laserleistung.



**Abbildung 8: OCT-Bildausschnitte einer Bestrahlungsserie (S – S + 4) 1 Stunde nach der Behandlung mit Angabe der greatest linear diameters (GLDs) (Photokoagulationsläsion Nr. 63 – 67)**

Bestrahlungsdurchmesser: 300 µm, Bestrahlungszeit: 50 ms



Da die Schadensmorphologien trotz identischer Parameterkombination deutlich voneinander abwichen, wurden Schadensklassen anhand morphologisch ähnlicher Merkmale gebildet. Das führte zu einem Klassifikationssystem von 7 OCT-Schadensklassen (0 – 6) (Kapitel 3.1).

## **2.5 Statistik**

Die Berechnungen wurden mit der freien Statistik-Software R (R Foundation for Statistical Computing 2009), Version 2.10.1 erstellt. Lediglich die ANOVA mit Messwiederholungen wurde mit der Software SPSS® (Version 20, IBM GmbH, Ehingen) durchgeführt.

Der Fishers Exakt Test wurde zur Berechnung des Zusammenhangs zweier diskreter Variablen, beispielsweise der OCT-Schadensklasse und der Sichtbarkeit oder der OCT-Schadensklasse und der Bestrahlungszeit genutzt.

Zur Beurteilung der Korrelation zweier stetiger Größen wurde eine einfache lineare Regressionsanalyse durchgeführt (z. B. bei der Überprüfung der Beziehung zwischen Fundusdurchmesser und GLD).

Die Korrelation mehrerer diskreter Einflussfaktoren wie z. B. der OCT-Schadensklasse (W) (0 – 6), Bestrahlungszeit (X) (20 ms, 50 ms, 100 ms und 200 ms) oder Bestrahlungsdurchmesser (Y) (100 µm und 300 µm) mit stetigen Größen wie der Herdspitztemperatur in °C oder dem GLD in µm erfolgte mit einer Varianzanalyse (univariante ANOVA) mit und ohne Interaktion der Einzelfaktoren (W, X, Y). In Strata wurde jeder Einzelfaktor getrennt untersucht. Eine Normalverteilung der stetigen Größen wurde angenommen. Die Modellauswahl erfolgte durch eine Rückwärtsselektion.

Eine univariante ANOVA mit Messwiederholung wurde verwendet, um Änderungen im Zeitverlauf zu untersuchen, etwa des GLDs.

Alle Varianzanalysen erforderten den Ausschluss von Nullwerten.

P-Werte von 0.05 wurden als statistisch signifikant gewertet. Bei multipler Testung erfolgte eine Adjustierung der p-Werte mittels Bonferoni-Methode. Die statistischen Analysen wurden von Frau Doktor Amke Caliebe durchgeführt.

### 3 ERGEBNISSE

Es wurden insgesamt 562 Photokoagulationsläsionen appliziert. Von diesen konnten 504 in OCT-Bildausschnitten aufgefunden werden (1 Stunde nach der Behandlung).

Bei den Patienten, die nach ETDRS-Kriterien behandelt wurden, konnten 35 Photokoagulationsläsionen mit Behandlungsparametern gemäß einer zentral fokalen Photokoagulation und 58 Photokoagulationsläsionen mit Parametern gemäß einer panretinalen Photokoagulation in der OCT detektiert werden.

Von den anderen 435 Studienphotokoagulationsläsionen (Patienten 5 – 20) konnten nach 1 Stunde 411 Photokoagulationsläsionen in der OCT beurteilt werden. Davon wurden 201 mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  (20 ms: n = 17; 50 ms: n = 62; 100 ms: n = 84; 200 ms: n = 38) und 210 mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$  (20 ms: n = 59; 50 ms: n = 50; 200 ms: n = 101) appliziert.

Im Studienverlauf brach 1 Patient (Patient 5) die Studie vorzeitig (nach 3 Monaten) ab.

Die Gesamtzahl der in jede statistische Analyse eingeschlossenen Photokoagulationsläsionen variierte einerseits zwischen den Beurteilungskriterien und andererseits im Studienverlauf (z. B. aufgrund des Ausschlusses von Nullwerten [GLD], dem Ausschluss durch fehlerhafte Temperaturmesswerte, dem Ausschluss aufgrund schlechter Bildqualität etc.). Von insgesamt 282 Photokoagulationsläsionen konnte über den 6-monatigen Zeitverlauf der Studie ein vollständiger Datensatz generiert werden. Er bestand aus GLDs zu 4 verschiedenen Evaluationszeitpunkten: 1 Stunde, 1 Monat, 3 Monaten und 6 Monaten nach der Studienbehandlung.

#### 3.1 OCT-Schadensklassifikation

Auf der Grundlage des qualitativen morphologischen Schadensausmaßes in der OCT (1 Stunde nach der Behandlung) entwickelten wir eine Schadensklassifikation, die für alle untersuchten Bestrahlungszeiten und -durchmesser gültig war. Beurteilt wurde dabei auch die axiale Ausdehnung der Photokoagulationsläsion durch die verschiedenen Netzhautschichten. Auf dieser differenzierten Beurteilung basiert die siebenstufige OCT-Schadensklassifikation mit ansteigender Schadensintensität (OCT-Schadensklasse 0 – 6) (Abbildung 9). Diese stellt das gesamte Intensitätsspektrum vom anfänglich noch unsichtbaren Photokoagulationsläsionen (OCT-Schadensklasse 1) bis hin zu kräftig sichtbaren Photokoagulationsläsionen (OCT-Schadensklasse 6) dar. Eine Photokoagulationsläsion höherer Schadensklasse beinhaltet alle morphologischen Veränderungen der darunterliegenden Schadensklassen.

### 3.1.1 Definition der OCT-Schadensklassen

OCT-Schadensklasse	1	2	3	4	5	6
		1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde	1 Stunde
Illustration	1 Woche		1 Stunde		1 Stunde	
OCT-Bildausschnitt						
vor der Behandlung						
1 Stunde nach der Behandlung						
1 Monat nach der Behandlung						
3 Monate nach der Behandlung						
6 Monate nach der Behandlung						
Schichten-legende	<p>1 Ganglienzellschicht mit Nervenfasern (ganglion cell layer, GL) und innere plexiforme Schicht (inner plexiform layer, IPL)  2 Innere Körnerschicht (inner nuclear layer, INL)  3 Äußere plexiforme Schicht (outer plexiform layer, OPL)  4 Äußere Körnerschicht (outer nuclear layer, ONL)  5 Äußere Grenzmembran (external limiting membrane, ELM)  6 Myoide Zone (MZ)  7 Ellipsoide Zone (EZ)  8 Äußere Photorezeptorsegmente (photoreceptor outer segments, OS)  9 Retinales Pigmentepithel (RPE) und Bruch-Membran (BM)  10 Aderhaut /Choroidea</p>					

**Abbildung 9: Darstellung der OCT-Schadensklassen**

Darstellung der charakteristischen morphologischen Veränderungen der OCT-Schadensklassen (1 – 6) anhand ausgewählter Photokoagulationsläsionen (OCT-Bildausschnitte).

Eine schematische Illustration der morphologischen Veränderungen der Netzhaut jeder OCT-Schadensklasse wird in der oberen Zeile gezeigt. Unterhalb dieser werden jeweils OCT-Bildausschnitte einer Beispielläsion zu den verschiedenen Evaluationszeitpunkten abgebildet. Die umrandeten Photokoagulationsläsionen in der OCT-Schadensklasse 2, 3, 4 und 5 schließen die Photokoagulationsläsion ein, auf die sich die jeweilige OCT-Schadensklasse bezieht. Eine Legende der retinalen Schichten sowohl für die OCT als auch für die Schematazeichnung findet sich in der untersten Zeile. Diejenigen Photokoagulationsläsionen, welche zu keinem Zeitpunkt sichtbar waren, wurden der Gruppe 0 zugeordnet (hier nicht dargestellt).

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2012 a.

OCT-Schadensklasse 0: Diese Schadensklasse beinhaltet alle Photokoagulationsläsionen, die unsichtbar und zu keinem Zeitpunkt in der OCT nachweisbar waren, obwohl ihre Behandlungsstelle sicher in den OCT-Schnittbildern abgebildet wurde.

OCT-Schadensklasse 1: Diese Photokoagulationsläsionen waren 1 Stunde nach der Behandlung nicht sichtbar. Eine Reaktion auf Niveau des RPE in Form von einer minimalen Reflektivitätszunahme und Ausdünnung der äußeren Körnerschicht (outer nuclear layer, ONL) zeigte sich nach 1 Woche. Im Studienverlauf blieb die Reflektivitätszunahme erhalten. Alle übrigen Schichten waren unverändert.

OCT-Schadensklasse 2: Diese Photokoagulationsläsionen zeigten eine minimale Reflektivitätszunahme in der ONL. Die EZ, die OS, das RPE und die Bruch-Membran (Grenzmembran zwischen RPE und Aderhaut) waren intakt. Im Studienverlauf zeigte sich nach 1 Monat eine Reaktion der OS. Zusätzlich waren eine Reflektivitätszunahme in der ONL und eine Unterbrechung der äußeren plexiformen Schicht (outer plexiform layer, OPL) zu sehen. Nach 6 Monaten war eine Reflektivitätszunahme auf Niveau des RPE zu beobachten.

OCT-Schadensklasse 3: Diese milden Photokoagulationsläsionen zeigten in der OCT eine deutliche säulenförmige Reflektivitätszunahme, die sich vom RPE bis in die innere plexiforme Schicht (inner plexiform layer, IPL) erstreckte. Die Ganglienzellschicht mit Nervenfasern (ganglion cell layer, GL) erschien weitestgehend intakt. Zudem wurden eine Unterbrechung der EZ und eine Reflektivitätszunahme in den OS sichtbar. Das RPE konnte fakultativ (bei längerer Bestrahlungszeit) durch eine Blase aufgewölbt sein, wobei die Bruch-Membran zu keinem Zeitpunkt beeinträchtigt erschien. Im Zeitverlauf zeigte sich nach 1 Monat eine fibrotische Reaktion in der inneren Körnerschicht (inner nuclear layer, INL). Nach 6 Monaten waren diese Veränderungen noch deutlich sichtbar.

OCT-Schadensklasse 4: Im Gegensatz zur OCT-Schadensklasse 3 waren das RPE und vermutlich die Bruch-Membran an der Stelle der Photokoagulationsläsion ausgedünnt. Daneben kam es zu kleinen RPE-Aufwölbungen mit einer Reflektivitätszunahme an den Photokoagulationsläsionsrändern und einer Unterbrechung der ONL. Im Heilungsverlauf zeigten sich deutliche Gewebereaktionen und eine Ausdünnung der GL.

OCT-Schadensklasse 5: Zusätzlich zu den Merkmalen der OCT-Schadensklasse 4 wölbte sich das RPE ringförmig um die Photokoagulationsläsion herum auf, wobei es im Zentrum weiterhin anlag. Dabei wurde zwischen zwei Morphologien unterschieden. Diese wurden bei unterschiedlichen Bestrahlungszeiten beobachtet: Bei kürzerer Bestrahlungszeit war der innere Ring dieser RPE-Aufwölbung aufgeplatzt (erschien somit ausgehöhlt). Bei längerer Bestrahlungszeit erschien der innere Ring unversehrt. Die OPL und INL waren intakt, wohingegen in der inneren plexiformen Schicht (inner plexiform layer, IPL) und der GL eine Reflektivitätszunahme zu beobachten war. Nach 6 Monaten waren noch kräftige Gewebereaktionen erkennbar.

OCT-Schadensklasse 6: Stärkste Schadensintensität. Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 6 zeigten eine säulenförmige optische Reflektivitätszunahme bis in die INL. Auf Höhe der ONL konnte in dieser Säule eine Signalminderung beobachtet werden. Dieser helle Kern war nach 6 Monaten nicht mehr sichtbar, stattdessen zeigte sich aber eine massive Gewebereaktion, die bis an die OPL heranreichte.

Die Verteilung der Anzahl der Photokoagulationsläsionen auf die OCT-Schadensklassen wird in Tabelle 1 dargestellt.

**Tabelle 1: Anzahl der Photokoagulationsläsionen je OCT-Schadensklasse  
(1 Stunde nach der Behandlung)**

OCT-Schadensklasse	Anzahl der Photokoagulationsläsionen
0	51
1	40
2	44
3	190
4	77
5	82
6	20

### **3.2 Validität der postulierten OCT-Schadensklassifikation**

Die Validität der postulierten OCT-Schadensklassifikation wurde durch statistische Analysen der Parameter Sichtbarkeit im Fundusfarbfoto (Kapitel 3.2.1), Sichtbarkeit in der OCT (Kapitel 3.2.2), Fundusdurchmesser, GLD (Kapitel 3.2.3) und Herdspitztemperatur (Kapitel 3.2.4) überprüft. Diese bestätigten sowohl die Validität als auch die aufsteigende Reihenfolge der OCT-Schadensklassen.

Mit ansteigender OCT-Schadensklasse stiegen die funduskopische Sichtbarkeitsrate, der Fundusdurchmesser (dies sei hier nur vollständigkeithalber erwähnt), der GLD und die Herdspitztemperatur.

Des Weiteren zeigte sich im 6-monatigen Zeitverlauf eine statistisch signifikante Abnahme des GLDs über die OCT-Schadensklassen 2 – 6, wobei der Anstieg des GLDs über die OCT-Schadensklassen erhalten blieb (Kapitel 3.2.3).

Da die im Vorfeld unbekannten OCT-Morphologien in zufälliger Anzahl erzeugt wurden, konnte einigen OCT-Schadensklassen nur eine geringe Anzahl Photokoagulationsläsionen zugeordnet werden (Tabelle 1). Dies hatte zur Folge, dass bei der statistischen Analyse in manchen Subgruppen keine signifikanten Ergebnisse erzielt werden konnten.

Zudem ist an dieser Stelle darauf hinzuweisen, dass für die Varianzanalysen Mittelwerte der Beurteilungskriterien (GLD, Herdspitztemperatur, Laserleistung und Fundusdurchmesser) gebildet wurden. Die Angaben dieser Werte erfolgen als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung (MW  $\pm$  SD).

### 3.2.1 Funduskopische Sichtbarkeit

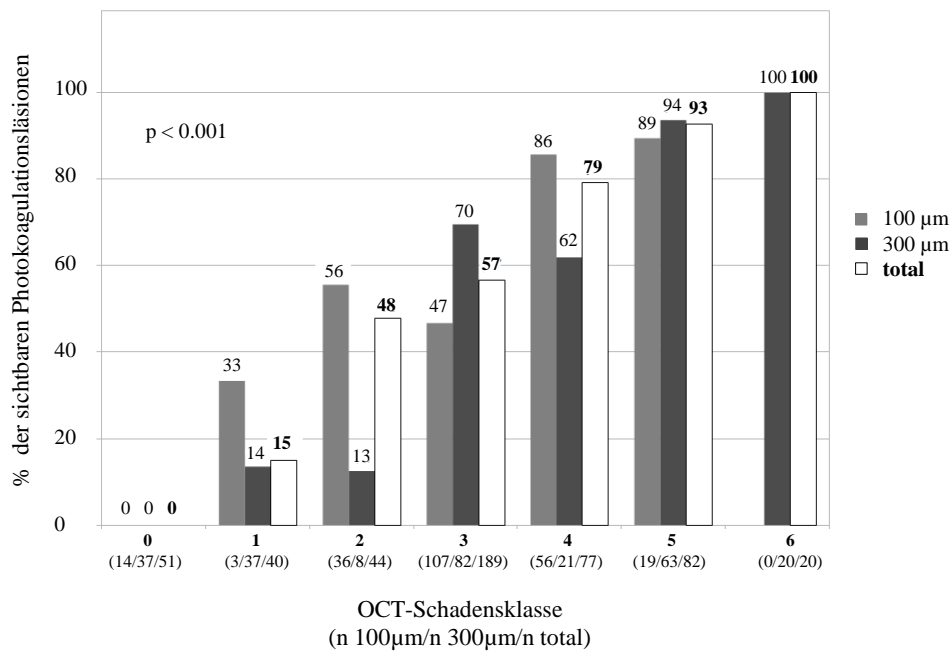
In folgendem Balkendiagramm (Abbildung 10) ist die funduskopische Sichtbarkeitsrate der Photokoagulationsläsionen für jede OCT-Schadensklasse (0 – 6) stratifiziert nach Bestrahlungsdurchmesser dargestellt (1 Stunde nach der Behandlung).

Die Analyse zeigte, dass sich die funduskopischen Sichtbarkeitsraten zwischen den OCT-Schadensklassen signifikant unterscheiden (weißer Balken; exakter Fisher Test  $p < 0.001$ ).

Die Sichtbarkeitsrate stieg von Schadensklasse zu Schadensklasse an. Die Ergebnisse belegen die Validität als auch die aufsteigende Reihenfolge der OCT-Schadensklassen.

Als Einzelfaktoren hatten die Parameter Bestrahlungsdurchmesser ( $p = 0.43$ ) sowie Bestrahlungszeit ( $p = 0.08$ ) keinen statistisch signifikanten Einfluss auf die funduskopische Sichtbarkeit.

**Funduskopische Sichtbarkeitsrate der Photokoagulationsläsionen  
in Bezug zur OCT-Schadensklasse  
(1 Stunde nach der Behandlung)**



**Abbildung 10: Funduskopische Sichtbarkeitsrate der Photokoagulationsläsionen in Bezug zur OCT-Schadensklasse**

Die Abbildung stellt prozentual die Sichtbarkeit der Photokoagulationsläsionen in Bezug zur OCT-Schadensklasse 1 Stunde nach der Behandlung dar (weißer Balken). Innerhalb der OCT-Schadensklassen wird die Sichtbarkeitsrate nochmals differenziert nach den unterschiedlichen Bestrahlungsdurchmessern angegeben. Unterhalb der X-Achse wird analog dazu die absolute Anzahl der Photokoagulationsläsionen der Subgruppen, sowie die Gesamtanzahl der Photokoagulationsläsionen einer OCT-Schadensklasse aufgeführt (n 100 µm/ n 300 µm/n total). OCT-Schadensklasse 0 ist per Definition nicht sichtbar.

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2012 a .

### 3.2.2 Sichtbarkeit in der OCT

In der OCT konnten 1 Stunde nach der Behandlung auch Photokoagulationsläsionen detektiert werden, die funduskopisch zum gleichen Evaluationszeitpunkt nicht sichtbar waren.

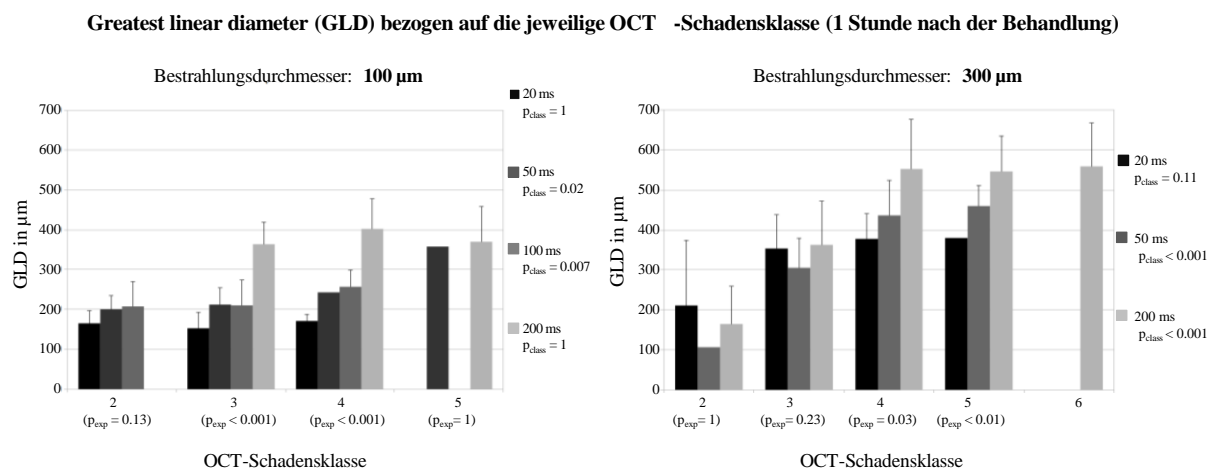
Die Sichtbarkeitsrate nach 1 Stunde für OCT-Schadensklasse 0 betrug per Definition 0 %. Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 1 konnten meist erst 1 Woche nach der Behandlung in der OCT detektiert werden. Für OCT-Schadensklassen 2 und höher betrug die Sichtbarkeitsrate nach 1 Stunde 100 %.

### 3.2.3 Greatest linear diameter (GLD)

Um die Interaktion zwischen dem GLD (gemessen 1 Stunde nach der Behandlung) und den Parametern OCT-Schadensklasse, Bestrahlungsdurchmesser und Bestrahlungszeit zu untersu-

chen, wurde eine Varianzanalyse verwendet. Diese erforderte den Ausschluss von GLD-Nullwerten, sodass Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklassen 0 und 1 nicht in die Analyse einbezogen wurden.

Die Auswertung ergab statistisch signifikante Unterschiede der GLDs zwischen den OCT-Schadensklassen, zwischen den Bestrahlungsdurchmessern und zwischen den Bestrahlungszeiten (je  $p < 0.001$ ). Die paarweisen Interaktionen von OCT-Schadensklasse und Bestrahlungsdurchmesser, von OCT-Schadensklasse und Bestrahlungszeit sowie von Bestrahlungsdurchmesser und Bestrahlungszeit bezogen auf die GLDs waren ebenfalls hoch signifikant ( $p < 0.001$ ).



**Abbildung 11: Systematische Darstellung der mittleren greatest linear diameters (GLDs) in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse, Bestrahlungszeit und Bestrahlungsdurchmesser (1 Stunde nach der Behandlung)**

Die Abbildungen stellen die mittleren GLDs (Y-Achse) mit Standardabweichungen (SD) in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse (2 – 6; X-Achse), Bestrahlungszeit (verschiedenfarbige Balken) und Bestrahlungsdurchmesser (Abbildung links: 100 µm; Abbildung rechts: 300 µm) dar. Die SD wird als Fehlerbalken dargestellt, falls die Subgruppe mindestens 3 Photokoagulationsläsionen enthält.

Der mittlere GLD steigt mit zunehmender OCT-Schadensklasse und innerhalb einer OCT-Schadensklasse mit zunehmender Bestrahlungszeit. Dieser Zusammenhang erlangt in einigen Subgruppen statistische Signifikanz. Signifikanzen sind als  $p_{exp}$  und  $p_{class}$  aufgeführt.

$p_{exp}$  (exp  $\triangleq$  exposure; Bestrahlungszeit): P-Wert für den Einfluss der Bestrahlungszeit auf den mittleren GLD innerhalb einer bestimmten OCT-Schadensklasse.

$p_{class}$  (class; OCT-Schadensklasse): P-Wert für den Einfluss der OCT-Schadensklasse auf den mittleren GLD bei gleicher Bestrahlungszeit.

Alle p-Werte wurden aufgrund der multiplen Testung mithilfe der Bonferoni-Methode adjustiert.

OCT-Schadensklasse 0 und 1 werden von der Analyse ausgeschlossen, weil alle GLD-Werte nach einer Stunde definitionsgemäß 0 betrugen.

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2012 a.

Bei der Beurteilung der GLDs in Strata nach Bestrahlungsdurchmesser (100 µm beziehungsweise 300 µm) und nach Bestrahlungszeit (20 ms, 50 ms, 100 ms und 200 ms) zeigte sich,



dass die Anzahl der Photokoagulationsläsionen jeder einzelnen Schicht teils zu klein waren, um systemische Einflüsse der Parameter OCT-Schadensklasse, Bestrahlungsdauer und Bestrahlungsdurchmesser in allen Zusammenhängen statistisch signifikant herauszuarbeiten (Abbildung 11).

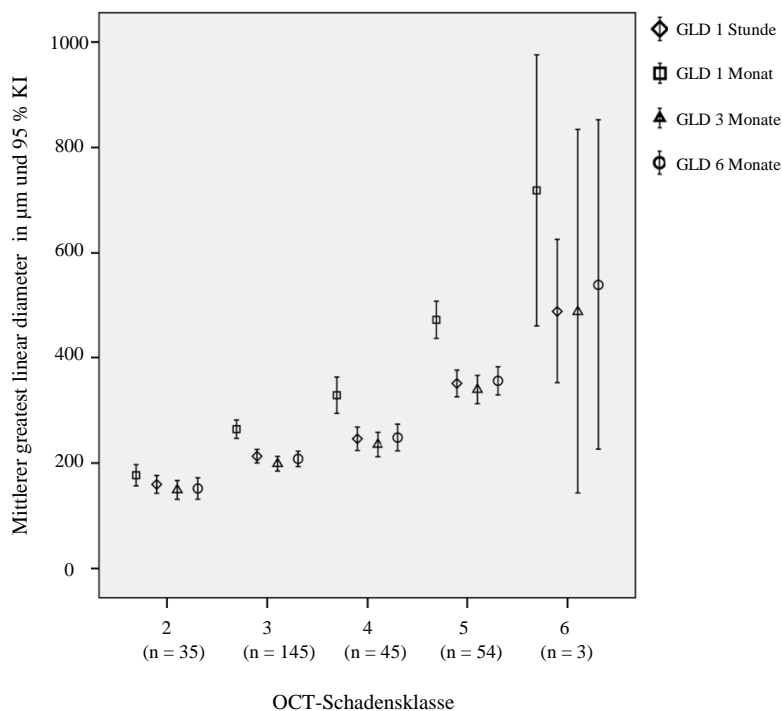
Die GLDs der Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  waren weitgehend unabhängig der OCT-Schadensklassen. Dies wurde bei Bestrahlungszeiten von 20 ms, 50 ms und 100 ms anhand der relativ homogenen GLDs von  $197 \pm 53 \mu\text{m}$  deutlich (dies entspricht etwa dem 2-fachen Bestrahlungsdurchmesser). Photokoagulationsläsionen mit einer Bestrahlungszeit von 200 ms hatten die Tendenz sich auf  $386 \pm 83 \mu\text{m}$  auszubreiten (dies entspricht etwa dem 4-fachen Bestrahlungsdurchmesser). Lediglich in den OCT-Schadensklassen 3 und 4 unterschied sich der gemessene GLD signifikant zwischen den Bestrahlungszeiten ( $p < 0.001$ ).

In den Subgruppen mit einer Bestrahlungszeit von 50 ms und 100 ms zeigte sich mit ansteigender OCT-Schadensklasse eine signifikante Zunahme des GLDs (jeweils  $p < 0,05$ ). Jedoch bestand nur ein minimaler Unterschied zwischen den GLDs dieser Subgruppen (50 ms und 100 ms) je OCT-Schadensklasse.

Die GLDs der Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$  waren bei milden Schadensintensitäten (OCT-Schadensklasse 2 und 3) weitgehend unabhängig von der Bestrahlungszeit. Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 2 wiesen einen GLD von  $210 \pm 122 \mu\text{m}$  (dies entspricht etwa 2/3 [70 %] des Bestrahlungsdurchmessers) auf. Bei Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 3 entsprach der GLD annähernd dem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$  ( $339 \pm 92 \mu\text{m}$ ). Die GLDs von Photokoagulationsläsionen, die den OCT-Schadensklassen 4 und 5 zugeordnet wurden, stiegen mit ansteigender Bestrahlungszeit auf 126 % (20 ms) – 182 % (200 ms) an (20 ms:  $378 \pm 67 \mu\text{m}$ ; 200 ms:  $547 \pm 90 \mu\text{m}$ ) ( $p < 0.05$ ). Photokoagulationsläsionen mit einer Bestrahlungszeit von 50 ms und 200 ms zeigten eine signifikante Zunahme des GLDs mit ansteigender OCT-Schadensklasse ( $p < 0.001$ ), wohingegen bei 20 ms dieser Zusammenhang nicht signifikant war ( $p = 0.11$ ).

Im Zeitverlauf der Studie wurde der GLD 1 Stunde, 1 Monat, 3 Monate und 6 Monate nach der Behandlung erhoben. Mittels einer ANOVA wurden die GLD-Änderungen analysiert. Von der Varianzanalyse ausgeschlossen waren GLD-Nullwerte (OCT-Schadensklasse 0 und 1) und unvollständige GLD-Datensätze (z. B. bei Photokoagulationsläsionen, die aufgrund einer schlechten OCT-Bildqualität/einer Randlage in der OCT nicht vermessen werden konnten oder aufgrund eines Studienabbruchs nicht zu allen Evaluationszeitpunkten erhoben wer-

den konnten). In dieser Analyse waren  $n_{\text{total}} = 282$  Photokoagulationsläsionen auswertbar (Abbildung 12). Es zeigte sich, dass die Änderung des GLDs einer OCT-Schadensklasse zwischen dem Beobachtungszeitpunkt nach 1 Stunde gegenüber 1 Monat nach der Behandlung am größten ist. Generell ließ sich eine Abnahme des GLDs im Zeitverlauf von 3 Monaten beobachten. Der GLD-Anstieg über die OCT-Schadensklassen blieb erhalten. Dieses Wundheilungsverhalten zeigte sich in den OCT-Schadensklassen 2 – 5 über den gesamten 6-monatigen Zeitverlauf ( $p < 0.001$ ). Die OCT-Schadensklasse 6 wurde wegen der geringen Fallzahl nicht in die statistische Analyse einbezogen.

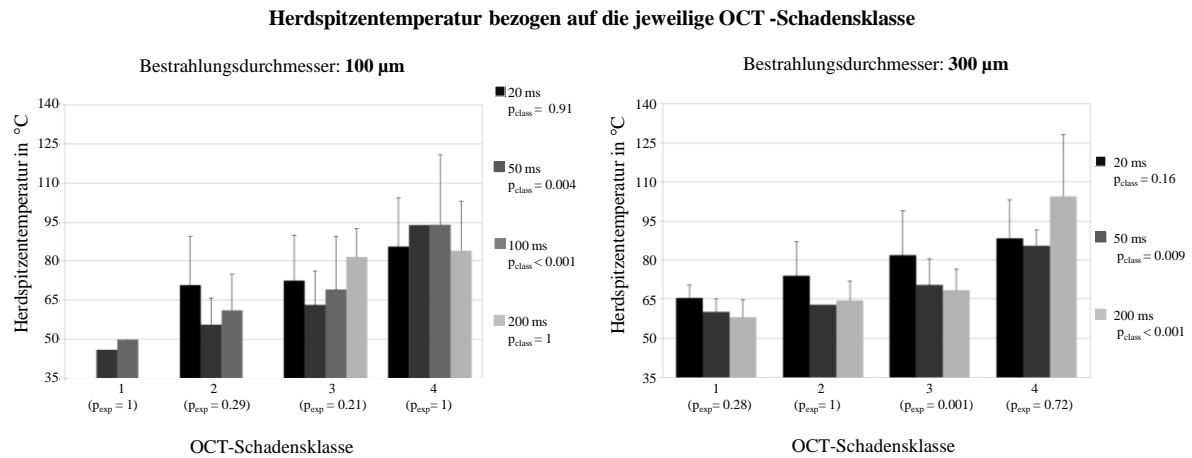


**Abbildung 12: Änderungen des mittleren greatest linear diameters (GLDs) im Zeitverlauf**

Das Symbol zeigt den GLD-Mittelwert (+ 95 % Konfidenzintervall [KI]) zu 4 verschiedenen Evaluationszeitpunkten der Studie in Bezug zur OCT-Schadensklasse. Die Gesamtanzahl der Photokoagulationsläsionen (n) der jeweiligen OCT-Schadenklasse wird auf der X-Achse angegeben.

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2014.

### 3.2.4 Herdspitztemperatur



**Abbildung 13: Systematische Darstellung der mittleren Herdspitztemperatur in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse, Bestrahlungszeit und Bestrahlungsdurchmesser**

Diese Abbildung stellt die durchschnittliche Herdspitztemperatur (Y-Achse) jeder Subgruppe mit der Standardabweichung (SD) in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse (1 – 4; X-Achse), Bestrahlungszeit (verschiedenfarbige Balken) und Bestrahlungsdurchmesser (Abbildung links: 100 µm; Abbildung rechts: 300 µm) dar. Die SD wird als Fehlerbalken dargestellt, wenn die Subgruppe mindestens 3 Photokoagulationsläsionen umfasst. Die OCT-Schwellentemperatur liegt je nach Bestrahlungsdurchmesser und -zeit zwischen 50 °C und 65 °C. Die Herdspitztemperatur steigt auf 100 °C oder mehr an. Signifikanzen sind als  $p_{exp}$  und  $p_{class}$  aufgeführt, erreichen aber aufgrund der hohen Anzahl unterschiedlicher Parameterkombinationen nicht überall statistische Signifikanz.

$p_{exp}$  (exp  $\triangleq$  exposure; Bestrahlungszeit): P-Wert für den Einfluss der Bestrahlungszeit auf die mittlere Herdspitztemperatur innerhalb einer bestimmten OCT-Schadensklasse.

$p_{class}$  (class; OCT-Schadensklasse): P-Wert für den Einfluss der OCT-Schadensklasse auf die mittlere Herdspitztemperatur bei gleicher Bestrahlungszeit.

Alle p-Werte werden aufgrund der multiplen Testung mithilfe der Bonferoni-Methode adjustiert. OCT-Schadensklassen 0, 5 und 6 werden von der Analyse ausgeschlossen. Für die OCT-Schadensklasse 0 ist die Herdspitztemperatur, wenn sie nur die Schadensschwelle unterschreitet, praktisch beliebig und daher als Mittelwert nicht sinnvoll auszuwerten. Für OCT-Schadensklasse 5 und 6 ist die optoakustische Temperaturmessmethode fehlerhaft.

Abbildung aus Koinzer et al. 2012 a.

Um die Interaktion der Herdspitztemperatur auf die Parameter OCT-Schadensklasse, Bestrahlungsdurchmesser und Bestrahlungszeit zu untersuchen, wurde eine univariante ANOVA durchgeführt. Die OCT-Schadensklassen 0, 5 und 6 wurden von der Analyse ausgeschlossen, da die Temperaturdaten nicht korrekt ausgewertet werden konnten (Kapitel 4.3).

Die Auswertung ergab statistisch signifikante Unterschiede der Herdspitztemperatur im Vergleich der OCT-Schadensklassen, der Bestrahlungszeiten (je  $p < 0.001$ ) und der Bestrahlungsdurchmesser ( $p = 0.009$ ). Die paarweisen Interaktionen von OCT-Schadensklasse und Bestrahlungsdurchmesser einerseits, von OCT-Schadensklasse und Bestrahlungszeit anderer-

seits sowie der Bestrahlungsdurchmesser und Bestrahlungszeit bezogen auf die Herdspitzen-temperaturen waren nicht signifikant ( $p > 0.05$ ).

Gemäß unseren Erwartungen nahm mit zunehmender OCT-Schadensklasse die Herdspitzen-temperatur zu (in Abhängigkeit von der Bestrahlungszeit und des Bestrahlungsdurchmessers) (Tabelle 2). Bei intensiveren Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklassen 5 und 6 war keine verlässliche Temperaturberechnung mehr möglich (Kapitel 4.3).

**Tabelle 2: Mittlere Herdspitzentemperatur in °C je OCT-Schadensklasse**

OCT-Schadensklasse	Herdspitzentemperatur in °C (Mittelwert $\pm$ Standardabweichung)
1	$58.4 \pm 7$
2	$65.0 \pm 15$
3	$70.5 \pm 16$
4	$90.4 \pm 22$
5	95 und mehr

Der Zusammenhang des Anstiegs der Herdspitzentemperatur bei ansteigender OCT-Schadensklasse war für gut die Hälfte der Subgruppen statistisch signifikant (bei Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  mit einer Bestrahlungszeit von 50 ms und 100 ms sowie bei Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$  mit einer Bestrahlungszeit von 50 ms und 200 ms (je  $p < 0.001$ ) (Abbildung 13).

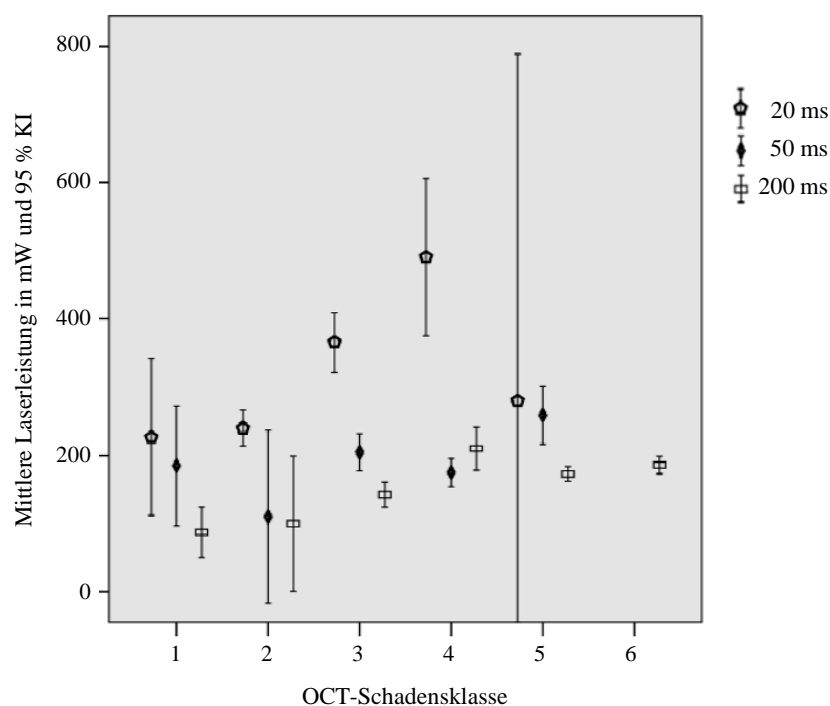
Es war zu erwarten, dass Photokoagulationsläsionen mit kürzerer Bestrahlungszeit für das Erreichen der gleichen OCT-Schadensklasse höhere Herdspitzentemperaturen benötigen. Dieser Zusammenhang wurde in den Subgruppen 300  $\mu\text{m}$ /OCT-Schadensklassen 1 – 3 als Trend erkennbar und erreichte nur in OCT-Schadensklasse 3 statistische Signifikanz ( $p = 0.001$ ): Photokoagulationsläsionen mit einer Bestrahlungszeit von 20 ms erreichten eine Herdspitzen-temperatur von  $81.8 \pm 17$  °C. Bei einer Bestrahlungszeit von 50 ms wurde eine Herdspitzen-temperatur von  $70.5 \pm 10$  °C gemessen. Photokoagulationsläsionen mit einer Bestrahlungszeit von 200 ms erreichten eine Herdspitzentemperatur von  $68.4 \pm 8$  °C.

Bei gleicher Bestrahlungszeit und identischer OCT-Schadensklasse stieg die Herdspitzentemperatur mit ansteigendem Bestrahlungsdurchmesser (100  $\mu\text{m}$  < 300  $\mu\text{m}$ ). Die biologisch relevante Schwellentemperatur, ab der ein in der OCT nachweisbarer Koagulationsschaden in der Netzhaut entsteht, lässt sich aus den Daten grob abschätzen und dürfte, je nach Bestrahlungszeit und Bestrahlungsdurchmesser, bei 50 – 65 °C liegen.

### 3.2.5 Laserleistung

Es wurde die Interaktion der angewandten Laserleistung auf die Parameter OCT-Schadensklasse, Bestrahlungsdurchmesser und Bestrahlungszeit untersucht.

Die Auswertung ergab statistisch signifikante Unterschiede der Laserleistung zwischen den OCT-Schadensklassen, den Bestrahlungsdurchmessern und den Bestrahlungszeiten (je  $p < 0.001$ ). Alle paarweisen Interaktionen bezogen auf die Laserleistung waren hoch signifikant ( $p < 0.001$ ). Erwartungsgemäß, basierend auf der klinischen Erfahrung und auf der Grundlage der Arrhenius-Theorie, wurde bei einer längeren Bestrahlungszeit eine geringere Laserleistung benötigt, um die Morphologie der gleichen OCT-Schadensklasse zu erzeugen. Dieser Zusammenhang wurde am deutlichsten sichtbar bei Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$  der OCT-Schadensklasse 3 ( $p < 0.001$ ). Die Laserleistung beläuft sich bei einer Bestrahlungszeit von 20 ms auf  $368.1 \pm 123$  mW, bei einer Bestrahlungszeit von 50 ms auf  $204.6 \pm 68$  mW und bei einer Bestrahlungszeit von 200 ms auf  $132.4 \pm 47$  mW (Abbildung 14).



**Abbildung 14: Mittlere Laserleistung in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse, Bestrahlungszeit und einem Bestrahlungsdurchmesser von 300  $\mu\text{m}$**

Die Abbildung zeigt, welche mittlere Laserleistung nötig ist, um bei einer definierten Bestrahlungszeit die jeweilige OCT-Schadensklasse zu erzielen. Die Symbole geben die mittlere Leistung an, die Fehlerbalken das 95 % Konfidenzintervall.

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2014.

Eine Zunahme der Laserleistung mit ansteigender OCT-Schadensklasse (bei gleichbleibender Bestrahlungszeit) konnte in einzelnen Subgruppen beobachtet werden. Bei Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300 µm und einer Bestrahlungszeit von 20 ms beziehungsweise 200 ms nahm die Laserleistung über die OCT-Schadensklassen 1 – 4 zu.

Das Konfidenzintervall war bei einigen Subgruppen 300 µm/20 ms sowie in den OCT-Schadensklasse 1 und 2 relativ groß. Aufgrund dessen muss man davon ausgehen, dass bei vorausgewählter Laserleistung keine Vorhersage darüber möglich ist, welche OCT-Schadensklasse eine Photokoagulationsläsion erreicht.

### 3.3 Routine-Photokoagulationsläsionen

Um einen Anhaltspunkt zu erhalten, welche Charakteristika die nach ETDRS-Kriterien applizierten Photokoagulationsläsionen aufweisen, wurden die Photokoagulationsläsionen der ersten vier Patienten noch einmal separat anhand gleicher Kriterien, nämlich anhand der Sichtbarkeit (im Fundusfarbfoto und in der OCT), dem Fundusdurchmesser, dem GLD, der Herdspitztemperatur und der OCT-Schadensklasse beurteilt (Tabelle 3).

**Tabelle 3: Routine-Photokoagulationsläsionen (Patient 1 – 4)**

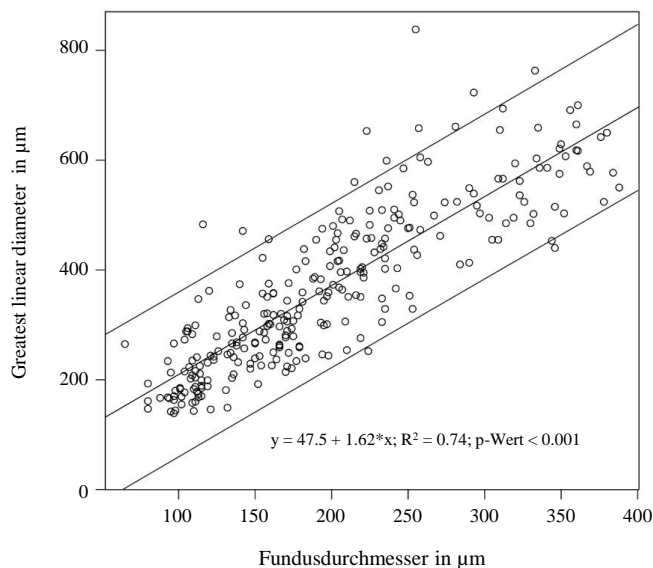
		Behandlungsparameter nach ETDRS-Kriterien	
		zentral fokale Photokoagulation: 100 µm/100 ms	panretinale Photokoagulation: 300 µm/200 ms
Gesamtzahl der Photokoagulationsläsionen (n)		35	58
Sichtbarkeit (n/%)	Fundusfarbfoto	29/83 %	57/98 %
	OCT	35/100 %	58/100 %
Schadensdurchmesser in µm (Mittelwert ± Standardabweichung)	Fundusfarbfoto	151 ± 77	312 ± 62
	OCT (GLD)	255 ± 40	536 ± 84
OCT-Schadensklasse (n/%)	3	12/34 %	3/5 %
	4	23/66 %	3/5 %
	5	–	34/59 %
	6	–	18/31 %
Herdspitztemperatur in °C (Mittelwert ± Standardabweichung)		100 ± 23	90 ± 17 **

\*\*Aufgrund der Änderung der Gewebeeigenschaften während der Photokoagulation, kann keine exakte optoakustische Temperaturmessung erfolgen. Die Herdspitztemperatur wird höher sein als die hier ermittelte.

### 3.4 Korrelation von GLD und Fundusdurchmesser

Es wurde eine Regressionsanalyse zwischen den GLDs in der OCT und den vermessenen Schadensdurchmessern im Fundusfarbfoto durchgeführt. Es sollte herausgefunden werden, ob die funduskopisch sichtbare Schadensausdehnung mit dem mikrostrukturellen, lateralen Schadensausmaß (GLD) in der OCT korreliert. Die Analyse berücksichtigte alle Photokoagulationsläsionen, welche sowohl im OCT als auch im Fundusfarbfoto nach 1 Stunde sichtbar waren und vermessen werden konnten.

In Abbildung 15 wird die lineare Regressionsgerade dargestellt. Der Korrelationskoeffizient ( $R^2$ ) beträgt 0,74 ( $p < 0.001$ ). Es besteht also ein mittlerer bis starker Zusammenhang zwischen den gemessenen Schadensdurchmessern dieser beiden Verfahren, wobei der mikrostrukturelle Schaden, wie ihn die OCT darstellt, circa 1,6 x größer ist als die retinale Weißfärbung im Fundusfarbfoto erkennen lässt.



**Abbildung 15: Regressionsanalyse zwischen den in der OCT vermessenen greatest linear diameters (GLDs) und den im Fundusfarbfoto vermessenen Schadensausdehnungen (Fundusdurchmessern) (1 Stunde nach der Behandlung)**

In der Graphik werden die lineare Regressionsgerade (mittlere Linie), das 95 % Konfidenzintervall, die Regressionsgleichung, der Regressionskoeffizient und der p-Wert dargestellt. Anhand eines gemessenen Fundusdurchmessers lässt sich eine Aussage über den GLD machen. Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 0 und 1, die weder in der OCT noch im Fundusfarbfoto nach 1 Stunde sichtbar sind, werden von der Analyse ausgeschlossen.

Abbildung modifiziert aus Koinzer et al. 2012 a.

## 4 DISKUSSION

### 4.1 Beurteilung der Photokoagulationsläsion

Die funduskopische Schadenseinteilung ist die gegenwärtige Methode, um eine Photokoagulationsläsion zu beschreiben. Sie erlaubt keine klinische Charakterisierung funduskopisch unsichtbarer Photokoagulationsläsionen. Unsere Fragestellung schloss solche nicht sichtbaren Photokoagulationen jedoch ein, sodass neue Kriterien definiert werden mussten, welche ihre Beurteilung ermöglichten: Sichtbarkeit im Fundusfarbfoto nach 1 Stunde, OCT-Sichtbarkeit nach 1 Stunde oder verzögert, GLD nach 1 Stunde, GLD im Zeitverlauf (1 Monat, 3 Monate und 6 Monate nach der Behandlung), Herdspitztemperatur und Laserleistung. Die präzisierte Beschreibung einer Photokoagulationsläsion mit Temperaturkorrelation soll dazu dienen, zukünftig bestimmte, OCT-definierte Schadensintensitäten automatisch mittels temperaturkontrollierter Photokoagulation zu erzeugen. In der vorliegenden Studie wurde erstmals ein Laserphotokoagulator an Patienten angewendet, der während der Applikation einer Photokoagulationsläsion die erzeugten Netzhauttemperaturen nicht-invasiv und in Echtzeit bestimmen konnte.

#### 4.1.1 Fundusfarbfoto

In der Studie diente das Fundusfarbfoto, das 1 Stunde nach der Behandlung aufgenommen wurde, zur Evaluation der Sichtbarkeitsschwelle der Photokoagulationsläsionen (Kapitel 2.4.1.2). Wurde eine Photokoagulationsläsion als sichtbar bewertet, erfolgte zusätzlich eine funduskopische Durchmesserbestimmung (Kapitel 2.4.1.3).

Die Analyse zeigte, dass alle Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklassen 1 – 6 sichtbar werden können (Kapitel 3.2.1). Die Sichtbarkeitsrate stieg mit zunehmender OCT-Schadensklasse an. Offensichtlich gibt die funduskopische Sichtbarkeitsrate einen Hinweis auf die Wahrscheinlichkeit, eine gewisse OCT-Schadensmorphologie zu erreichen. Jedoch bestehen erhebliche Einschränkungen.

Die Auswertung der Photokoagulationsläsionen der ersten 4 Patienten, die nach ETDRS-Standard behandelt wurden und als Zielintensität der zentral fokalen Behandlung gerade eben erkennbare Weißfärbung hatten, zeigte, dass Läsionen der OCT-Schadensklassen 1 und 2 nicht erzeugt wurden, obwohl auf zartestmögliche Effekte titriert wurde.



Darüber hinaus wurde der Zusammenhang zwischen dem Fundusdurchmesser und dem GLD untersucht (Kapitel 3.4). Eine lineare Korrelation zwischen den zwei Durchmessern konnte nachgewiesen werden, wobei der GLD 1,5 – 2 x größer war als der Fundusdurchmesser. Aufgrund dieses Ergebnisses kann man sagen, dass der GLD gemessen am Fundusdurchmesser ein zuverlässiges Maß für die Schadensgröße ist, und dass die Größe des Fundusdurchmessers die tatsächliche Schadensausdehnung einer Photokoagulationsläsion offensichtlich deutlich unterschätzt. Zu ähnlichen Ergebnissen kam unsere Arbeitsgruppe bei der Korrelation der GLD-Daten mit den histologischen Befunden von Photokoagulationsläsionen am Kaninchenauge (Koinzer et al. 2013).

#### 4.1.2 OCT

Mit der Spectralis® OCT kam in der Studie ein nicht-invasives, schnelles und hochsensitives bildgebendes Verfahren zum Einsatz. Die OCT liefert einen in vivo Querschnitt durch die retinalen Schichten, der annähernd mit der Histologie vergleichbar ist (Kang et al. 2010, Koinzer 2014). Sie erlaubt die Zuordnung retinaler Schichten zur Histologie (Staurenghi et al. 2014), wobei in diversen Studien gezeigt werden konnte, dass die korrekte Interpretation der Schichtenzuordnung in der OCT eine gewisse Erfahrung erfordert.

Unsere Arbeitsgruppe konnte eine gute strukturelle Analogie zwischen der OCT und der Histologie aufzeigen (Koinzer et al. 2013). Bei der Beurteilung der Zellularität im Detail ist die Histologie allerdings deutlich überlegen (Ruggeri et al. 2007). Die Auswirkungen der Photokoagulationsläsion auf die axiale Schadensausdehnung, insbesondere eine Beteiligung der Ganglienzellschicht mit den dort verlaufenden Nervenfasern, werden in der OCT tendenziell unterschätzt (Koinzer et al. 2013). Die axiale Schadensausdehnung ist jedoch funktionell sehr relevant, weil ihr Ausfall zu ausgedehnten Gesichtsfeldausfällen führen würde. Unsere bildmorphologischen OCT-Analysen zeigten selbst bei intensiven Photokoagulationsläsionen nur vereinzelt Auswirkungen auf die INL und die darüberliegenden Zellschichten (Koinzer et al. 2012 a). Eine intakte INL in der OCT erlaubt demzufolge keine verlässliche Aussage über die strukturelle und funktionale Unversehrtheit der Ganglienzellschicht. Das laterale Schadensausmaß (GLD) einer Photokoagulationsläsion hingegen erscheint in der OCT größer als in der Histologie (Koinzer et al. 2013). Die Histologie gilt somit nach wie vor als Goldstandard, um pathomorphologische Vorgänge der Retina zu beobachten und zu erklären. Die OCT hingegen erlaubt eine in vivo Bildgebung der Retina zu unterschiedlichen Zeitpunkten. Aus diesem Grund und weil am Patienten keine histologischen Untersuchungen im erforderlichen

Umfang möglich sind, wird die OCT als derzeit bestmögliche Alternative angesehen, um physiologische und pathologische Vorgänge an der Retina in vivo zu untersuchen.

Die Arbeitsgruppe um Lavinsky untersuchte in einer OCT-Studie eine Reihe von kaum sichtbaren bis moderat sichtbaren Photokoagulationsläsionen über einen Zeitraum von 1 Jahr (Lavinsky et al. 2013). Diese wurden mit Bestrahlungsdurchmessern zwischen 100 – 400  $\mu\text{m}$  und Bestrahlungszeiten zwischen 10 – 100 ms erzeugt. Sie konnten beobachten, dass es bei anfänglich kaum sichtbaren Photokoagulationsläsionen im Zeitverlauf OCT-morphologisch zu einer Wiederherstellung der Photorezeptorschicht kam. An anderer Stelle konnten sie histologische Belege für eine Heilung der Photorezeptorschicht darlegen. Die Korrelation von Histologie und OCT-Schnittbild, die unsere Arbeitsgruppe selbst erarbeitet hat, deutet an, dass von einer alleinigen OCT-morphologischen Restitution nicht auf eine histologische Wundheilung geschlossen werden sollte (Koinzer et al. 2013). Bei moderaten Photokoagulationsläsionen beobachteten auch Lavinsky et al. eine deutliche Narbenbildung (Lavinsky et al. 2013).

Eine Studie, die sowohl Photokoagulationen nach ETDRS-Kriterien als auch funduskopisch unsichtbare Photokoagulationsläsionen mit einem breiten Spektrum an Parametervariationen beinhaltete, wurde unseres Wissens bisher nicht durchgeführt. Unsere Datenauswertung führte zu 7 OCT-Schadensklassen (Koinzer et al. 2012 a). Erstmals gelang eine Differenzierung und Charakterisierung von funduskopisch unsichtbaren Photokoagulationsläsionen in die OCT-Schadensklassen 1 und 2. Die OCT-Schadensklassen 3 – 6 sind vergleichbar mit den von anderen Arbeitsgruppen qualitativ beschriebenen OCT-Morphologien nach retinaler Photokoagulation (Mojana et al. 2011, Muqit et al. 2011). Es wurde die zum Zeitpunkt der Studie bestmögliche klinisch verfügbare OCT-Bildqualität (unter anderem ein OCT-Gerät mit Eye-Tracking Funktion, hohe OCT-Schnittbildmittelung [20 Scans/s], digitales Upscaling) genutzt. Ebenso war die Verwendung der systematisch variierten, großen Bandbreite an Parametervariationen ein entscheidender Schritt für die Entwicklung und Validierung der systematischen OCT-Klassifikation. Die OCT-Schadensklassifikation wurde nur an einer einzigen Bestrahlungswellenlänge, nämlich für den 532 nm-Laser, untersucht, sodass zu ihrer Anwendbarkeit auf andere Bestrahlungswellenlängen, die klinisch etwa auch im IR-Bereich verwendet werden, keine Aussagen getroffen werden kann. OCT-Studien an IR-Läsionen zeigen allerdings, dass die entstehenden Schäden sehr ähnlich zu den von uns beobachteten sind (Mojana et al. 2011).

Die OCT-Klassifikation schließt allerdings nur Photokoagulationsläsionen bis zu einer moderaten Weißfärbung ein, wie sie nach ETDRS-Standard verwendet werden. Intensivere und

stärker schädigende Photokoagulationsläsionen schloss unser Studienprotokoll mit Rücksicht auf die ethische Vertretbarkeit aus. Die Studie erlaubt daher keine Aussage über charakteristische Merkmale intensiverer Schäden, die dieses Schadensausmaß überschreiten.

Die Gültigkeit der OCT-Schadensklassen und deren ansteigende Reihenfolge im untersuchten Intensitätsspektrum wurde durch die ansteigende funduskopische Sichtbarkeitsrate, den ansteigenden Fundusdurchmesser, den ansteigenden GLD (im Zeitverlauf: Wundheilungsverlauf) und die ansteigende Herdspitztemperatur belegt.

Die differenzierte – auf die OCT-Schadensklassen bezogene – Analyse der GLDs zeigte, dass die GLDs der OCT-Schadensklasse 2 mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 300 µm kleiner oder gleich dem Bestrahlungsdurchmesser waren. Bei Photokoagulationsläsionen mit einer stärkeren Schadensintensität nahmen die GLDs mit zunehmender Bestrahlungszeit zu (20 ms: 126 % und 200 ms: 182 %). Muquit et al. kamen in einer Studie zu ähnlichen Ergebnissen (Muquit et al. 2011). Sie untersuchten 120 Photokoagulationsläsionen, die mit einem Laser der Wellenlänge 532 nm und einem Bestrahlungsdurchmesser von 392 µm appliziert wurden (1 Stunde, 1 Monat, 3 Monate und 6 Monate nach der Behandlung). Sie variierten zwischen verschiedenen Bestrahlungszeiten (20 – 200 ms) und unterschiedlichen Laserleistungen (nicht sichtbar – intensiv sichtbar). Die GLD-Vermessung 1 Stunde nach der Behandlung zeigte, dass im Verhältnis zu dem Bestrahlungsdurchmesser von 392 µm milde Photokoagulationsläsionen einen kleineren GLD (zwischen 49 – 72 %) und intensive Photokoagulationsläsionen einen größeren GLD (zwischen 100 – 133 %) aufwiesen. Die Varianz im Vergleich zu den Analysen der Arbeitsgruppen (Muquit et al. 2011 versus Koinzer et al. 2012 a) kann man damit erklären, dass mit unterschiedlichen OCT-Geräten gearbeitet wurde, welche je nach Filter- und Bildbearbeitungstechnik, insbesondere in quantitativen Analysen, nicht ganz übereinstimmende Bildergebnisse erzeugen. Darüber hinaus sind dafür gewisse beobachterabhängige Messungenauigkeiten bei der Vermessung der GLDs denkbar.

Interessanterweise zeigte sich, dass das Verhältnis des GLDs zum Bestrahlungsdurchmesser bei Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100 µm größer war (zwischen 153 – 403 %) als bei 300 µm (zwischen 70 – 186 %), während für gleiche OCT-Schadensklassen die GLDs unabhängig vom Bestrahlungsdurchmesser recht ähnlich ausfielen. Da der heißeste Punkt der Photokoagulation im Bestrahlungszentrum auftritt und sich von dort per Wärmeleitung in die Nachbarschaft ausbreitet, scheint die Peripherie des Bestrahlungsfeldes eine geringere Bedeutung für den biologischen Schaden zu haben. Bei Photokoagulationsläsionen nach ETDRS-Kriterien belief sich der mittlere GLD bei zentral fokalen Photokoagulationsläsionen auf 255 % des Bestrahlungsdurchmessers und bei panretinalen

Photokoagulationsläsionen auf 179 %. Obwohl im Allgemeinen Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  als sicherer angesehen werden, zeigten die Ergebnisse, dass die Sicherheitsabstände relativ zur Bestrahlungsgröße zwischen den einzelnen Photokoagulationsläsionen bei der Applikation kleiner Durchmesser (100  $\mu\text{m}$ ) größer sein sollten als die Sicherheitsabstände zwischen größeren (300  $\mu\text{m}$ ) Photokoagulationsläsionen. Die Tatsache, dass Photokoagulationsläsionen mit einem Bestrahlungsdurchmesser von 100  $\mu\text{m}$  und einer Bestrahlungszeit von 20 ms, 50 ms, und 100 ms ungefähr einen doppelt so großen GLD verursachten, und der GLD bei einer Bestrahlungszeit von 200 ms auf das 4-fache anstieg, stimmt mit der klinischen Empfehlung überein. Diese empfiehlt im Makulabereich kürzere Bestrahlungszeiten, um die Ausdehnung des thermischen Effektes zu begrenzen, und wurde von den im deutschsprachigen Raum üblichen 100 ms in modifizierten Empfehlungen auf 50 ms reduziert.

Anzustreben ist eine Begrenzung des thermischen Effektes auf die RPE-Zellschicht und die angrenzende Photorezeptorschicht, um die größten Sauerstoffverbraucher auszuschalten. Dies verbessert die Sauerstoffversorgung des übrigen Gewebes. Bei längeren Expositionszeiten bleibt der Lasereffekt infolge der Wärmeweiterleitung meist nicht auf die absorbierenden Zellschichten beschränkt. Dies kann zu einer intensiven und für die Wirksamkeit vermutlich unnötigen Schädigung der inneren Netzhautschichten führen (Schargus und Schrader 2010).

## **4.2 Optimierungsbedarf bei der retinalen Photokoagulation**

Die Notwendigkeit einer Optimierung der Laserdosierung wurde schon in den 1980er Jahren erkannt (Gabel et al. 1986). Bereits damals war bekannt, dass die biologische Wirkung gleicher Laserbestrahlungsparameter je nach lokaler Transmission und Absorption an der Bestrahlungsstelle in unvorhersehbarer Weise schwankt.

Die Arbeitsgruppen um Birngruber und Inderfurth verfolgten den Ansatz der Echtzeit-Reflektometriemessung (Birngruber et al. 1977, Inderfurth et al. 1994). Sie gingen davon aus, dass es in koagulierten, sich weiß färbenden Netzhautarealen zu einem Anstieg der Lichtreflexion im Vergleich zu transparenter Retina kommt. Diese Reflexionsänderung wurde von einem Photodetektor registriert, woraufhin der Laser abgeschaltet werden sollte. Einen vom Prinzip ähnlichen Ansatz ging die Arbeitsgruppe von Pomerantzeff nach (Pomerantzeff et al. 1983). Sie versuchten das Verfahren zu verbessern, indem sie vor der Photokoagulation eine Signalkalibrierung der Lichtreflexion durchführten, die den lokalen Pigmentierungsgrad des

zu behandelnden Bestrahlungsareals berücksichtigt. Auf dieser Grundlage sollte eine Vorhersage über die Höhe der erwarteten Absorption der Laserenergie getroffen werden, die zur korrekten Abschaltung des Laserstrahls genutzt werden sollte.

Jerath et al. versuchten, eine Verfahrensoptimierung durch Messung der Lichtreflexion und ein optisches Echtzeit-Rückkopplungssystem zu erreichen (am Kaninchen) (Jerath et al. 1993). Sobald eine bestimmte Lichtreflexion in einem vorgegebenen Areal erreicht wurde, sollte die Laserabschaltung erfolgen. Alle genannten Verfahren scheiterten für die klinische Anwendung jedoch an zu geringer Präzision. Einerseits aufgrund der noch eingeschränkten technischen Möglichkeiten ihrer Zeit wie z. B. unzureichende Rechengeschwindigkeit, andererseits an den im verwendeten Zeitfenster auftretenden Bewegungsartefakten und an der verzögert einsetzenden retinalen Weißfärbung, welche in relevantem Ausmaß erst nach etwa einer Sekunde eintritt.

Andere Gruppen verfolgten den Ansatz, eine Temperaturmessung des bestrahlten Netzhautareals zu realisieren. Dies liegt nahe, wenn man bedenkt, dass die lokale Weißverfärbung der Netzhaut das Resultat der dort induzierten Temperaturerhöhung ist.

Eine retinale Temperaturmessung durch die Implantation von Mikrothermosensoren in die Retina war aufgrund des Versuchsaufbaus nur in Tierversuchen möglich (Polhamus und Welch 1975). Polhamus und Welch konnten am Kaninchen eine Temperaturschwelle von 52.4 °C für das Sichtbarwerden von Photokoagulationsläsionen ausmachen. Parver et al. wiesen in ihrer Studie daraufhin nach, dass Temperaturwerte, die auf diese Weise gewonnen werden, nur einen Hinweis auf die tatsächlichen Werte geben können, da die eingebrachten Mikrothermosensoren einige Fehlerquellen mit sich bringen (Parver et al. 1982). Zum einen stellen diese Fremdmaterial dar, das schon beim Einbringen in die Retina Gewebeschäden verursacht, zum anderen lässt sich nicht ausschließen, dass diese Mikrothermosensoren selbst durch eigene Absorption- und Reflexionscharakteristika zu einer veränderten Temperaturmessung führen (Birngruber 1991). Zudem ist die Messung nur punktuell an der Stelle des Mikrothermosensors möglich, sodass keine Aussage über das Temperaturprofil des bestrahlten Gewebeareals getroffen werden kann.

Auch eine Temperaturschätzung auf der Grundlage eines theoretischen Berechnungsmodells erwies sich nicht verwertbar (Birngruber et al. 1985). Es lässt lediglich eine Berechnung der durchschnittlichen Temperaturschwelle aus einem Set experimentell bestimmter Gewebeeigenschaften zu. Eine Modellrechnung erlaubt allerdings keine Vorhersage über den Temperaturanstieg einzelner Photokoagulationsläsionen, da lokale Pigmentierungs- und Transmissionschwankungen nicht berücksichtigt werden können.

In einer anderen Studie wurden Temperaturmessungen mittels Magnet Resonanz (MR-) Thermographie an einem Phantomauge durchgeführt. Diese Temperaturmessung ist allerdings sehr langsam und zudem nicht zeitgleich mit einer Photokoagulation am menschlichen Auge durchführbar (Maswadi et al. 2014).

Denton et al. bestimmten an einem in vitro Netzhautmodell eine Schwellentemperatur von  $53 \pm 2$  °C für den retinalen Zelltod durch Hochgeschwindigkeits-IR-Mikrothermographie (Denton et al. 2011). Am Patienten wäre diese Methode nicht anwendbar.

Trotz der Wirksamkeit von konventionellen Photokoagulationen gibt es begründete Zweifel, dass die Retina tatsächlich funduskopisch sichtbar geschädigt werden muss, um einen therapeutischen Effekt zu erzielen. Für die Theorie über die Wirkungsweise der retinalen Photokoagulation durch ein verändertes Zytokin-Profilung wurden einige Belege erbracht (Ogata et al. 2001 a, Ogata et al. 2001 b).

Luttrull et al. schlossen in der klinischen Studie Patienten mit einer proliferativen diabetischen Retinopathie ein (Luttrull et al. 2008). Diese Patienten wurden mit einer panretinalen Photokoagulation behandelt. Die Photokoagulationsläsionen wurden dabei mit einem gepulsten Laser im Mikrosekundenbereich erzeugt. Sie beschrieben eine Nicht-Unterlegenheit sanfterer Photokoagulationsläsionen.

Einen Anhalt für die Wirksamkeit milder Photokoagulationsläsionen liefern auch eine Reihe kleinerer Pilotstudien. Erreicht wurden milde bis unsichtbare Photokoagulationsläsionen unter anderem durch die Anwendung einer verringerten Laserleistung bei der Applikation des CW-Behandlungslasers (Bandello et al. 2001) oder durch die Applikation von Mikrosekundenlaserpulsen (z. B. im Rahmen der SRT) (Koinzer et al. 2008, Lavinsky et al. 2014, Roeder et al. 1999). Mithilfe der Applikation von Mikrosekundenlaserpulsen gelingt es, die Wärmeleitung dermaßen einzugrenzen, dass das axiale Schadensausmaß einer Photokoagulationsläsion begrenzt wird und bei Verwendung geeigneter Parameter sogar auf das RPE beschränkt bleibt. Damit lassen sich eine Reduktion von Schmerzen sowie eine bessere Wundheilung erzielen (Wang et al. 2017). Allerdings wird bei einer Verkürzung der Bestrahlungszeit für ungeladene Dauerbestrahlung das sichere therapeutische Fenster kleiner, sodass für eine sichere Schadensminimierung ein gepulster Laser eingesetzt werden sollte.

Lavinsky et al. verglichen in einer klinischen Studie 3 verschiedene Behandlungsstrategien bei Patienten mit einem diabetischen Makulaödem (Lavinsky et al. 2011). Die erste Gruppe erhielt eine Behandlung nach modifizierten ETDRS (mETDRS-) Kriterien, den Gruppen 2 und 3 wurden funduskopisch unsichtbare Photokoagulationsläsionen (subthreshold diode micropulse, SDM) mit unterschiedlicher Dichte als 'normal-density' (Gruppe 2) und 'high-

density' (HD) (Gruppe 3) appliziert. Nach einem Jahr war das Outcome der untersuchten Zielparameter (Visusentwicklung und zentral gemessene Netzhautdicke) der HD-SDM-Technik der mETDRS überlegen.

Bei dem Verfahren der SRT bleibt das Schadensausmaß auf das RPE begrenzt (Roider et al. 1993, Roider et al. 1992). Es werden kurze Mikrosekundenlaserpulse hintereinander (z. B. 1.7  $\mu$ s in einer 30er Serie) abgegeben, die lediglich zu einem kurzen, hohen Temperaturanstieg innerhalb der Melanosomen des RPEs führen. Dadurch kommt es an den Melanosomen zur Ausbildung von Mikroblasen, die zur Ruptur der betroffenen Zelle führen („thermomechanische“ Zellschädigung). Aufgrund der kurzen Laserpulse ist die Wärmeleitung in das umgebende Gewebe so gering, dass kein Kollateralschaden entsteht.

Einige kleine Pilotstudien konnten unter anderem die Effektivität der SRT bei der Therapie des diabetischen Makulaödems (Roider et al. 2010), der Therapie chronisch subretinaler Flüssigkeitsansammlung nach Netzhautablösung (Koinzer et al. 2008) und der zentralen serösen Retinopathie (Klatt et al. 2011, Yasui et al. 2017) aufzeigen. Die Ergebnisse sind vielversprechend. Allerdings bietet das Verfahren bisher keine überzeugende Kontrolle der Laserdosimetrie (Brinkmann et al. 2006).

Anderen Arbeitsgruppen am MLL, deren Ergebnisse in die Entwicklung der hier verwendeten Technik einfließen, gelang eine optoakustische Temperaturmessung unter retinaler Laserbestrahlung.

Die Arbeitsgruppe um Schuele beschrieb das Prinzip der Optoakustik (Schuele et al. 2005). Diese wurde in vitro an porcinen RPE-Zell-Proben und anschließend an Patienten während der SRT angewandt. Die bei der SRT entstandenen Mikroblasen führten zu einem Aufplatzen der Melanosomen. Dieser „thermomechanische Knalleffekt“ induzierte eine thermomechanische Schallwelle, die mittels eines Transducer an der Hornhautoberfläche erfasst werden konnte. Diese optoakustischen Signale wurden anschließend als Rückkoppelung des induzierten Effektes ausgewertet.

Kandulla et al. nutzten die Optoakustik zur nicht-invasiven Netzhauttemperaturmessung bei der transpupilläre Thermoherapie (TTT) (Kandulla et al. 2006). Die Messungen erfolgten an enukleierten Schweineaugen und in vivo an Kaninchen, die über einen Bestrahlungszeitraum von bis zu einer Minute mit einem CW-Laser bestrahlt wurden. Eine Laserdosimetrie scheiterte an Bewegungsartefakten, die in einem so langen Zeitfenster auftreten.

Unsere Arbeitsgruppe modifizierte die optoakustische Technik, um eine Echtzeit-Temperaturmessung bei der retinalen Photokoagulation zu ermöglichen. In technischer Hinsicht unterscheidet sich die Temperaturmessung bei der retinalen Photokoagulation von der

TTT unter anderem dadurch, dass die Bestrahlungszeiten deutlich kürzer sind (im Bereich von Millisekunden statt Sekunden). Um eine valide Aussage über die Herdspitztemperatur treffen zu können, muss zudem die optoakustische Messfrequenz zeitlich höher aufgelöst sein ( $f = 1 \text{ kHz [1000/s]}$  statt  $5 \text{ Hz [5/s]}$ ).

Die optoakustische Temperaturmessung während der Photokoagulation konnte bereits in Tierversuchen erfolgreich getestet werden (Koinzer et al. 2013, Schlott et al. 2012) und war auch für eine automatisierte Laserdosiskontrolle nutzbar (Koinzer et al. 2012 b).

### **4.3 Optoakustik in der retinalen Photokoagulation**

Mit Hilfe der Optoakustik konnte die Arbeitsgruppe von Brinkmann erstmalig zeitgleich zur retinalen Photokoagulation eine Echtzeittemperaturmessung der Netzhaut am Patienten vornehmen (Brinkmann et al. 2012). Dies ist ein bedeutender Fortschritt. Aufgrund der unkomplizierten Anwendung lässt sich die optoakustische Temperaturmessung gut in die klinische Routine Behandlung implementieren. Die Technik unterliegt allerdings gewissen Beschränkungen, die im Folgenden erörtert werden sollen:

Das Verfahren der Optoakustik erlaubt die Bestimmung relativer Temperaturänderungen ( $\Delta T$ ). Zur Umrechnung in absolute Temperaturen bedarf es zum einen der Kenntnis der Gewebeausgangstemperatur (hier näherungsweise die Körperkerntemperatur) und zum anderen Kalibrierungsmessungen für jede Netzhautstelle vor der Applikation einer Photokoagulationsläsion. Diese Kalibrierung ist notwendig, um die lokalen Transmissions- und Absorptionseigenschaften des Netzhautareals zu berücksichtigen.

Die Obergrenze der verlässlichen Messung wird durch die Umrechnungsfunktion limitiert, die nur bis zu einer Temperatur von circa  $110 \text{ }^{\circ}\text{C}$  definiert ist. Die Umrechnungsfunktion behält zudem nur ihre Gültigkeit, solange das Gewebe seine optoakustischen Eigenschaften nicht ändert. Kommt es bereits während der Applikation der Photokoagulationsläsion zu relevanten biomechanischen Gewebeänderungen, wie dies z. B. bei Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklassen 5 und 6 der Fall ist, verliert die vorherige Signalkalibrierung ihre Gültigkeit und kann nicht mehr zur Temperaturberechnung herangezogen werden. Infolge der Koagulation fallen die optoakustischen Signalantworten, welche mit einem Temperaturanstieg normalerweise ansteigen, ab (sogenanntes negatives Signalsoffset). Diese führen zur Fehlannahme fallender Temperaturen. Auch akustische Störsignale hervorgerufen durch Kavitationsblasen können die optoakustischen Signale überlagern und eine verlässliche Temperaturmessung verhindern. Ursächlich hierfür kann ein zu hoher lokaler Temperaturanstieg sein, etwa bei



verspeckelter inhomogener Bestrahlungsintensität innerhalb des Photokoagulationsareals. Das Risiko besteht insbesondere bei höheren Laserleistungen.

Der verwendete Geräteprototyp erlaubte 1000 Temperaturmessungen pro Sekunde vorzunehmen. Allerdings muss bedacht werden, dass die Messungenauigkeit des optoakustischen Verfahrens im Bereich von  $\pm 15\%$  der Temperaturänderung ( $\Delta T$ ) bei einer Signalkalibrierung zwischen  $37 - 55\text{ }^{\circ}\text{C}$  liegt (Baade et al. 2011). Die Messungenauigkeit nimmt bei längeren Bestrahlungszeiten ab, da die Anzahl der Einzelmessungen aufgrund der verlängerten Zeitspanne größer ist. Aufgrund dessen verbessert sich das Signal-zu-Rausch-Verhältnis, insbesondere auch durch die Anfitting der Messwerte an den nach der Wärmeleitungsgleichung zu erwartenden Temperaturverlauf. Allerdings ist mit zunehmender Zeit die Temperaturmessung anfälliger gegenüber Augenbewegungen.

In Anbetracht der Messungenauigkeit wäre in dieser Studie eine größere Anzahl an Photoakoagulationsläsionen erforderlich gewesen, um die Temperaturbereiche besser eingrenzen zu können. Da in dieser Studie erstmalig die optoakustische Temperaturmessung an Patienten verwendet wurde, war die Messungenauigkeit bei der Planung dieser Studie nicht bekannt und fiel etwas höher aus als aus Tierversuchen erwartet. Dies ist teils technisch bedingt, denn die technische Umsetzung der Optoakustik im CE-zertifizierten Gerät unterscheidet sich in einigen Details vom Laboraufbau, der in Tierversuchen verwendet wurde. Das gibt Anlass für eine technische Überarbeitung des CE-zertifizierten Gerätes nach Abschluss dieser Studie und ist zugleich der Grund dafür, dass in der stratifizierten Temperaturanalyse (Abbildung 13) nicht für alle Subgruppen konsistente und/oder signifikante Ergebnisse erhoben werden konnten. Die Zusammenschau aller Ergebnisse erlaubt immerhin eine gute Abschätzung sowohl der biologischen Temperaturschadensschwelle als auch der Entstehungstemperaturen der OCT-Schadensklassen 1 – 5, mit gewissen Einschränkungen bei Klasse 5 (Tabelle 2).

Besonders Srameks Ergebnisse korrespondieren sehr gut mit unseren Daten (Sramek et al. 2009). Sramek et al. postulieren auf Basis eines theoretischen Berechnungsmodells nach experimenteller Präzisierung der Berechnungsgrundlage (Arrhenius-Modell) eine Schwellentemperatur für den RPE-Zelluntergang zwischen  $53 - 70\text{ }^{\circ}\text{C}$  und eine Schwellentemperatur von  $183 \pm 8\text{ }^{\circ}\text{C}$  für eine Netzhautruptur (beides in Abhängigkeit der Bestrahlungszeit zwischen  $1 - 200\text{ ms}$ , bei einem Bestrahlungsdurchmesser von  $50\text{ }\mu\text{m}$ ). Unsere Messungen lieferten bei Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 1 mit einem Bestrahlungsdurchmesser von  $300\text{ }\mu\text{m}$  bei einer Bestrahlungszeit von  $20\text{ ms}$  einen Wert von  $65.4 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , bei  $50\text{ ms}$ :  $60.1 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  und bei  $200\text{ ms}$ :  $58.1 \pm 7\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Die Photokoagulationsläsionen dieser Schadensklasse zeichnen sich durch eine verzögerte Sichtbarkeit in der OCT (nach 1 Woche) aus.

Sie dürfte wahrscheinlich etwas oberhalb der Schadensschwelle für RPE-Zellen (biologischen Temperaturschadensschwelle) liegen.

Durch die Temperaturanalyse konnten für Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 1 Herdspitztemperaturen von  $58.4 \pm 7 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , und für die Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklasse 2 Temperaturen von  $65.0 \pm 15^{\circ}\text{C}$  ermittelt werden. Diese zwei OCT-Schadensklassen waren zwar funduskopisch unsichtbar, wurden aber in der OCT (zeitverzögert) sichtbar und zeigten alle im Studienverlauf einen Effekt in der OCT (fokale Hyperreflektivitäten in der äußeren Netzhaut). Es ist davon auszugehen, dass es sich dabei um biologische Reaktionen des RPE auf die retinale Photokoagulation handelte.

Die gemessenen Herdspitztemperaturen von den Photokoagulationsläsionen der OCT-Schadensklassen 3 korrespondierten mit Werten von  $70.5 \pm 16 \text{ }^{\circ}\text{C}$ , und die der OCT-Schadensklasse 4 mit Werten von  $90.4 \pm 22 \text{ }^{\circ}\text{C}$ . Funduskopisch erschienen die Photokoagulationsläsionen dieser OCT-Schadensklassen schwach sichtbar. Sie entsprachen der Koagulationsstärke wie sie bei der zentral fokalen Photokoagulation angestrebt und überwiegend erzielt werden. Die Photokoagulationsläsionen der Patienten 1 – 4, die mit zentral fokalen Behandlungsparametern appliziert wurden, erzielten diese OCT-Schadensklassen. Da bereits bei Photokoagulationsläsionen um die funduskopische Sichtbarkeitsschwelle herum histologisch der Untergang von Photorezeptoren zu sehen ist (Koinzer et al. 2012 b), muss auch für diese (als mild angenommenen) Photokoagulationsläsionen davon ausgegangen werden, dass die Photorezeptoren zerstört wurden. Wenn bereits bei niedrigeren Temperaturen eine eindeutige biologische Gewebereaktion auf den Laser in der OCT zu erkennen ist, wäre es gut möglich, dass das Schadensausmaß der zentral fokalen Behandlung bereits stärker als notwendig ist.

Klinisch deutlich sichtbare Photokoagulationsläsionen, wie sie in der klassischen Dosimetrie im therapeutischen Bereich der panretinalen Photokoagulation erzeugt werden, wurden überwiegend den OCT-Schadensklassen 5 und 6 zugeordnet. Für diese OCT-Schadensklassen waren keine verlässlichen Temperaturberechnungen mehr möglich. Sie erreichten Herdspitztemperaturen von  $95 \text{ }^{\circ}\text{C}$  oder mehr.

Bei den Photokoagulationsläsionen, die nach ETDRS-Kriterien appliziert wurden, bestand trotz des gemeinsamen funduskopischen Endpunktes (gleiches Behandlungsziel im Sinne von gleicher Intensität der Weißfärbung) eine hohe Variabilität im Erscheinungsbild der OCT. Vor allem die Photokoagulationsläsionen, die mit der panretinalen Parametervariation appliziert wurden, zeigten ein breites Spektrum an OCT-Schadensmorphologien (OCT-Schadensklasse 3 – 6), obgleich die Behandlung vom gleichen Arzt durchgeführt wurde. Diese Beobachtung wurde zum Anlass einer systematischen Untersuchung der Intensitäts-

schwankungen bei retinaler Photokoagulation zwischen verschiedenen Ärzten und verschiedenen Patienten genommen, welche unter Saeger et al. publiziert ist (Saeger et al.2017). Diese Untersuchung bestätigte die Annahme, dass die Dosimetrie mittels funduskopischer Beurteilung während der Behandlung zu sehr unterschiedlichen Läsionsintensitäten führt und dass verschiedene Behandler systematisch unterschiedlich intensive Läsionen erzeugen. Dass diese Schwankungen über Jahrzehnte der retinalen Photokoagulation nicht zu Schwierigkeiten führten, ist der relativ großen therapeutischen Breite des Verfahrens geschuldet, ändert aber nichts daran, dass offenbar bei einer Vielzahl von Photokoagulationsläsionen eine lokale Überbehandlung stattfindet.

Wir sehen in der optoakustischen Temperaturmessung das Potenzial, das Dosierungsproblem unter Rücksichtnahme der lokalen Netzhautgegebenheiten des Behandlungsareals zu lösen. Obgleich die Methode noch Optimierungspotenzial aufweist, konnte aufgezeigt werden, dass mit der Optoakustik eine nicht-invasive und am Patienten anwendbare Methode entwickelt wurde, um eine Echtzeitmessung der Netzhauttemperatur vorzunehmen. Die Methode eignet sich für die klinische Routine. Retrospektiv zeigen die Temperaturdaten einen guten Zusammenhang mit der Schadensmorphologie der Photokoagulationsläsionen in der OCT. Dies lässt hoffen, in Zukunft eine temperaturgesteuerte, spotindividuelle Echtzeitdosimetrie von Photokoagulationen möglich zu machen. In Tierversuchen wurde diese Methode bereits erfolgreich angewendet und weiterentwickelt (Schlott et al. 2012, Koinzer et al. 2015, Baade et al. 2017). Weitere Forschungsarbeiten sind notwendig, um das minimale, therapeutisch effektive Schadensausmaß der retinalen Photokoagulation zu bestimmen. Das betrifft insbesondere das Schadensausmaß des Einzeleffektes.

Für die Fragestellung der zentral fokal Photokoagulation ließe sich durch die selektive Applikation von OCT-Schadensklassen 1 und 2 über einen längeren Untersuchungszeitraum ein genaueres Bild über Wachstums- und Wundheilungsverlauf von funduskopisch unsichtbaren, dennoch biologisch wirksamen Photokoagulationsläsionen erlangen. Welche klinische Intensität nötig ist, um einen Effekt im Sinne eines Zytokin-Profilings zu erzeugen, müsste weiter erforscht werden. Daneben müsste in weiteren Studien geklärt werden, ob beziehungsweise welche funktionellen Defekte durch solche milden Photokoagulationsläsionen erzeugt werden. Mit veränderter Intensität der einzelnen Photokoagulationseffekte müsste dann gegebenenfalls auch die Gesamtanzahl der zu applizierenden Photokoagulationsläsionen adaptiert werden (Palanker et al. 2011, Lavinsky et al. 2011).

Für die Fragestellung der panretinalen Photokoagulation konnten Forschungsergebnisse aus kleineren Pilotstudien zeigen, dass Patienten, denen sanfte oder unsichtbare panretinale Pho-

tokoagulationsläsionen appliziert wurden, kein schlechteres Outcome aufweisen als diejenigen, die eine Behandlung nach ETDRS-Kriterien erhielten. Allerdings ist die Evidenz dieser Pilotstudien zu schwach, um die Behandlungsempfehlungen aus den großen klinischen Studien der ETDRS, BVOS und CVOS der 80er und 90er Jahre des 20. Jahrhunderts generell in Frage zu stellen. Dies liegt auch daran, dass bisher unter sanfter Photokoagulation recht inhomogene Endpunkte der Einzelläsionen verstanden wurden.

Mit der OCT-basierten Schadensklassifizierung steht nun erstmals eine Methode der untersucherunabhängigen, objektiven Beschreibung von Photokoagulationsintensitäten zur Verfügung, welche insbesondere um die funduskopische Sichtbarkeitsschwelle herum weitere, bisher nicht bekannte Intensitätskategorien entwickelt hat .

#### **4.4 Aussicht**

Diverse Arbeitsgruppen befassen sich intensiv mit der Optimierung der retinalen Photokoagulation. Auf der Basis der hier vorgestellten optoakustischen Temperaturmessung wurde bereits erfolgreich eine automatische temperaturgesteuerte Dosimetrie von Photokoagulationsläsionen im Kaninchenversuch angewendet (Koinzer et al. 2012 b, Schlott et al. 2012). Auf der Grundlage der optoakustischen Temperaturmessung wurde herdingividuell die Bestrahlungszeit in Echtzeit berechnet und angepasst. Mit dieser Technik konnten Photokoagulationsläsionen mit einer gewünschten Schadensintensität erzeugt werden. In einer weiteren Arbeit konnten auch 5 verschiedene Schadensintensitäten zwischen schwelennah und ETDRS-Intensität zuverlässig erzeugt werden (Koinzer et al. 2015). Die Bestrahlungszeiten variierten zwischen wenigen Millisekunden und 800 ms. Aufgrund der Variabilität der Bestrahlungszeit mit teils sehr langen Expositionszeiten der Einzelläsion erscheint dieses Verfahren für eine Patternlaser-Therapie weniger geeignet, da diese eine kurze Bestrahlungsdauer je Einzelläsion erfordert. Es erscheint auch fraglich, ob selbst bei ähnlicher histologischer Schadensmorphologie, die biologische Wirksamkeit bei Bestrahlungszeiten mit Schwankungen um den Faktor 200 wirklich vergleichbar ist. Daher erfolgte als weiterer Schritt hin zu einer automatischen Dosimetrie eine Steuerung der verwendeten Laserleistung bei konstanter Bestrahlungsdauer. Baade et al. applizierten Photokoagulationsläsionen mit einer festgelegten Bestrahlungszeit von 50 ms (Baade et al. 2017). Jede Bestrahlung bestand aus 3 Phasen: 1. Signalkalibrierung, 2. Messung des lokalen Temperaturanstieges während der Bestrahlung mit einer definierten Laserleistung und 3. die tatsächliche Applikation der Photokoagulationsläsion mit der aus 1. und 2. für das Erreichen des gewünschten Temperaturanstieges berechneten Laserleistung. Es

wurden im Tierversuch Photokoagulationsläsionen mit Zieltemperaturen (Temperaturmaximum) im Bereich von 50 – 80 °C appliziert. Dieses Dosimetrieverfahren zeigt eine zuverlässige Applikation von Photokoagulationsläsionen auch um die funduskopische Sichtbarkeitsschwelle herum. In Zukunft könnte diese Methode mit der Patternlaser-Therapie kombiniert werden. Auch dieses Verfahren hängt jedoch, was die Verwendung am Patienten angeht, von der technisch optimierten Umsetzung der optoakustischen Temperaturmessung ab.

Ein Ansatz zur Präzisierung der Platzierung von Photokoagulationsläsionen konnte mithilfe der sogenannten navigierten fokalen retinalen Photokoagulation umgesetzt werden (Kernt et al. 2012). Das NAVILAS® System erlaubt die grafische Planung der Photokoagulation an digitalen Fundusfarbfoto oder FAG-Bildern im Vorwege der eigentlichen Behandlung. Im Anschluss erfolgt eine patientenspezifische semiautomatische Photokoagulation ohne Kontaktglas. Durch die Nutzung eines Eye-Trackers weichen die applizierten Photokoagulationen um weniger als 60 – 110 µm von der digital geplanten Applikationsstelle ab. Allerdings beruht die Dosisfindung nach wie vor auf der funduskopischen Beurteilung der Weißfärbung. Eine Kombination des NAVILAS® Systems mit der optoakustischen Temperaturmessung ist denkbar.

#### **4.5 Aktuelle Therapieverfahren neben der retinalen Photokoagulation**

Neben der retinalen Photokoagulation existieren seit mehreren Jahren alternative (medikamentöse) Behandlungsmöglichkeiten, die die retinale Photokoagulation als Goldstandard bei der Behandlung von diabetischen Makulaödemem mit fovealer Beteiligung abgelöst haben. Bei Erkrankungen, die die zentralen Netzhautregionen betreffen, werden zunehmend intravitreale Injektionen mit VEGF-Hemmstoffen oder Steroiden als Monotherapie oder in Kombination mit einer Photokoagulationsbehandlung durchgeführt. Die 'Diabetic Retinopathy Clinical Research Network' Studie konnte deren Wirksamkeit bestätigen (Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al. 2010).

Die retinale Struktur wird durch die medikamentöse Behandlung mit VEGF-Hemmern funktionell nicht geschädigt, während hochdosierte Steroide eine retinotoxische Wirkung haben. Mögliche zusätzliche Nebenwirkungen der Steroidapplikation bestehen in der Ausbildung eines Glaukoms und einer Katarakt. Die Medikamentenwirkung ist zeitlich begrenzt. Aufgrund der Reservoir-Wirkung des Bublus oculi auf immerhin mehrere Wochen. Ein langfristiger Therapienutzen besteht trotzdem nur, wenn sich der Patient einer wiederholten Behandlung unterzieht. Dabei kumulieren mit der Injektionszahl die relativ geringen Risiken der Ein-

zelinjektionen, am kritischsten das Risiko einer Wundinfektion als Endophthalmitis mit mitunter deletärem Verlauf. Zudem sind sowohl der Untersuchungs- und Behandlungsaufwand, als auch die Gesamtkosten der Therapie, insbesondere aufgrund der hohen Medikamentenkosten, deutlich höher als bei einer Photokoagulationsbehandlung.

In einer Studie an 394 Augen mit peripher ischämischer Retinopathie konnte nachgewiesen werden, dass nach 5 Jahren die VEGF-Patienten trotz erheblich höheren Therapieaufwandes unter anti-VEGF-Therapie genauso schlechte Gesichtsfelder bekommen und auch sonst keine Vorteile gegenüber den Patienten mit panretinaler Photokoagulation haben. Im Verlauf kam es unter anderem durch Studienabbruch einiger Patienten zu einem deutlichen Rückgang der zu beurteilenden Studienaugen (240 Augen). Allerdings blieb das Verhältnis der Gruppengröße etwa gleich. Die panretinale Photokoagulation behauptet sich im Vergleich zur anti-VEGF-Behandlung bei peripher ischämischen Retinopathie wegen bedeutender Vorteile (geringerer Therapieaufwand, Behandlungsaufwand und Kosten) (Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al. 2018).

In einer Studie des Diabetic Retinopathy Clinical Research Network aus dem Jahr 2019 wurden 702 Augen mit diabetischem Makulaödem über einen Zeitraum von 2 Jahren untersucht (Diabetic Retinopathy Clinical Research Network et al. 2019). Es ging darum, ob man bei diabetischem Makulaödem im OCT bei gutem Visus (von mindestens 0,8) überhaupt behandeln soll. Laut deren Erkenntnissen sollte die Indikation zur Photokoagulationsbehandlung erst gestellt werden, wenn der Visus abfällt. Dies entspricht einer Änderung zu bisherigen Therapieempfehlungen.

## 5 ZUSAMMENFASSUNG

Die panretinale Photokoagulation ist therapeutischer Goldstandard zur Behandlung ischämischer Retinopathien, die z. B. durch eine diabetische Retinopathie oder venöse Gefäßverschlüsse im retinalen Versorgungsareal hervorgerufen werden. Diese Erkrankungen zählen weltweit zu den wesentlichen Ursachen der Erblindung. Der Nachweis eines erfolgreichen Therapieeffektes konnte in diversen Studien erbracht werden. Im Rahmen der retinalen Photokoagulationsbehandlung werden gezielt kleine Netzhautareale koaguliert, also sogenannte Photokoagulationsläsionen erzeugt. Je nach Indikation variieren die Empfehlungen für den Bestrahlungsdurchmesser und die Bestrahlungszeit des Lasers. Ebenso sind die Schadensintensität, die Anzahl der Photokoagulationsläsionen sowie der empfohlene Sicherheitsabstand zwischen den einzelnen Photokoagulationsläsionen abhängig von der zugrundeliegenden Netzhauterkrankung und dem zu behandelnden Netzhautareal. Die Wirkungsweise en Detail ist bislang nicht geklärt.

Die Laserbestrahlung führt zu einer lokalen laserinduzierten Temperaturerhöhung. Diese erzeugt eine thermische Schädigung (Proteindenaturierung und anschließende Ödembildung) des bestrahlten Netzhautareals. Sie wird durch eine einsetzende retinale Weißfärbung sichtbar. Die Beurteilung der Intensität der Weißfärbung erfolgt im Anschluss an die Applikation über eine Spiegelung des Augenhintergrundes (Funduskopie). Diese bisher übliche Klassifizierung ist wenig objektiv und erlaubt keine Beurteilung unterschwelliger, am Fundus unsichtbarer Läsionen. Die Intensität einer Photokoagulationsläsion wird bisher über die Laserleistung gesteuert.

Im Rahmen dieser Studie soll durch die Charakterisierung von Photokoagulationsläsionen mithilfe einer hochauflösenden in vivo Bildgebung der Netzhaut (optische Kohärenztomographie [OCT]) herausgefunden werden, ob das gesamte Intensitätsspektrum der applizierten Photokoagulationsläsionen (von funduskopisch unsichtbar bis hin zu moderat weiß gefärbt) detektiert und charakterisiert werden kann. Des Weiteren interessiert uns der Zusammenhang zwischen der lokal erzielten Netzhauttemperatur und der Schadensmorphologie in der OCT. Dazu wurde mit Hilfe der Technik der Optoakustik die Netzhauttemperaturprofile der Photokoagulationsläsionen ermittelt.

Einem Patientenkollektiv von 20 Patienten wurden insgesamt 562 Photokoagulationsläsionen mit einem kontinuierlichen Laserstrahl der Wellenlänge 532 nm appliziert. Zeitgleich mit der Bestrahlungslaserexposition wurden unschädliche Temperatur-Messlaserpulse gleicher Wellenlänge ausgesendet. Diese erzeugten temperaturabhängige optoakustische Signale, anhand

derer man die lokale laserinduzierte Temperaturerhöhung messen und ein Netzhauttemperaturprofil der Photokoagulationsläsion berechnen konnte.

Es wurden unterschiedliche Parameter variiert, um Photokoagulationsläsionen um die funduskopische Sichtbarkeitsschwelle herum zu erzeugen. Variiert wurden die Parameter Bestrahlungsdurchmesser (100  $\mu\text{m}$  oder 300  $\mu\text{m}$ ), Bestrahlungszeit (20 ms, 50 ms, 100 ms oder 200 ms) und Bestrahlungsintensität (durch die Anpassung der Laserleistung). Mithilfe der OCT konnten 504 der 562 Photokoagulationsläsionen 1 Stunde nach der Photokoagulationsbehandlung detektiert und die retinalen OCT-Schnittbilder ausgewertet werden. Analog dazu wurde die Sichtbarkeit und das Schadensausmaß der Photokoagulationsläsion anhand eines digitalen Fundusfarbfotos beurteilt, welches ebenfalls nach 1 Stunde erstellt wurde. Von insgesamt 282 Photokoagulationsläsionen konnte über den 6-monatigen Zeitverlauf der Studie hinweg ein vollständiger Datensatz generiert werden. Unter Zuhilfenahme der OCT gelang es, verschiedene fein differenzierte morphologische Charakteristika von Photokoagulationsläsionen herauszuarbeiten und eine siebenstufige Schadensklassifikation aufsteigender Schadensmorphologien zu erstellen. Die Gültigkeit dieser OCT-Schadensklassifikation und deren Reihenfolge konnten anhand der Kriterien funduskopische Sichtbarkeit, Schadensdurchmesser im Fundusfarbfoto (Fundusdurchmesser), größter linearer Schadensdurchmesser (GLD) in der OCT (zu unterschiedlichen Evaluationszeitpunkten) und berechneter Herdspitztemperatur belegt werden.

Die hier vorgestellte OCT-Schadensklassifikation ermöglicht eine objektive Schadensbeurteilung des gesamten Intensitätsspektrums von funduskopisch unsichtbar bis hin zu moderaten Photokoagulationsläsionen. Die Auswertung der Herdspitztemperaturen ergab eine gute Abschätzung sowohl der biologischen Temperaturschadensschwelle als auch der Entstehungstemperaturen der OCT-Schadensklassen 1 – 5 mit gewissen Einschränkungen bei der OCT-Schadensklasse 5.

Die Echtzeit-Netzhauttemperaturmessung soll in Zukunft als Methode für die Vorausberechnung der optimalen spotindividuellen Laserleistung dienen. Mit der temperaturkontrollierten Dosierung rückt man dem Ziel näher, reproduzierbare Photokoagulationsläsionen mit prognostizierbarer Schadensintensität applizieren zu können und damit die retinale Photokoagulation bei gleichbleibender klinischer Effektivität verträglicher zu machen.



## LITERATURVERZEICHNIS

- Argon laser scatter photocoagulation for prevention of neovascularization and vitreous hemorrhage in branch vein occlusion. A randomized clinical trial. Branch Vein Occlusion Study Group (1986). *Arch Ophthalmol*, 104, 34 – 41.
- Baade, A., Schlott, K., Luft, S., Ptaszynski, L., Bever, M., Birngruber, R. & Brinkmann, R. (2011): Accuracy of real-time optoacoustic temperature determination during retinal photocoagulation. *Proc SPIE* 80921B.
- Baade, A., von der Burchard, C., Lawin, M., Koinzer, S., Schmarbeck, B., Schlott, K., Miura, Y., Roider, J., Birngruber, R. & Brinkmann, R. (2017): Power-controlled temperature guided retinal laser therapy. *J Biomed Opt*, 22, 1 – 11.
- Bandello, F., Brancato, R., Menchini, U., Virgili, G., Lanzetta, P., Ferrari, E. & Incorvaia, C. (2001): Light panretinal photocoagulation (LPRP) versus classic panretinal photocoagulation (CPRP) in proliferative diabetic retinopathy. *Semin Ophthalmol*, 16, 12 – 18.
- Birngruber, R. (1991): Choroidal circulation and heat convection at the fundus of the eye. In: Wolbarsht, M. L. (Hrsg.) *Laser applications in medicine and biology*, Bd. 5, S. 277– 361, Plenum Press, New York.
- Birngruber, R., Gabel, V. P. & Hillenkamp, F. (1977): Fundus reflectometry: a step towards optimization of the retina photocoagulation. *Mod Probl Ophthalmol*, 18, 383 – 390.
- Birngruber, R., Hillenkamp, F. & Gabel, V.P. (1985): Theoretical investigations of laser thermal retinal injury. *Health Phys*, 48, 781 – 796.
- Blumenkranz, M. S., Yellachich, D., Andersen, D. E., Wiltberger, M. W., Mordaunt, D., Marcellino, G. R. & Palanker, D. (2006): Semiautomated patterned scanning laser for retinal photocoagulation. *Retina*, 26, 370 – 376.
- Boettner, E. A. & Wolter, J. R. (1962): Transmission of the ocular media. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 1, 776 – 783.
- Brinkmann, R., Koinzer, S., Schlott, K., Ptaszynski, L., Bever, M., Baade, A., Luft, S., Miura, Y., Roider, J. & Birngruber, R. (2012): Real-time temperature determination during retinal photocoagulation on patients. *J Biomed Opt*, 17, 061219-1 – 061219-10.
- Brinkmann, R., Roider, J. & Birngruber, R. (2006): Selective retina therapy (SRT): a review on methods, techniques, preclinical and first clinical results. *Bull Soc Belge Ophthalmol*, 302, 51 – 69.
- Denton, M. L., Noojin, G. D., Foltz, M. S., Clark, C. D. 3rd, Estlack, L. E., Rockwell, B. A. & Thomasc, R. J. (2011): Spatially correlated microthermography maps threshold temperature in laser-induced damage. *J Biomed Opt*, 16, 036003-1 – 036003-11.

- Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Baker, C. W., Glassmann, A. R., Beaulieu, W. T., Antoszyk, A. N., Browning, D. J., Chalam, K. V., Grover, S., Jampol, L. M., Jhaveri, C. D., Melia, M., Stockdale, C. R., Martin, D. F. & Sun, J. K. (2019): Effect of initial management with aflibercept vs laser photocoagulation vs observation on vision loss among patients with diabetic macular edema involving the center of the macula and good visual acuity: a randomized clinical trial. *J Am Med Ass Ophthalmol*, 321, 1880 – 1894.
- Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Elman, M. J., Aiello, L. P., Beck, R. W., Bressler, N. M., Bressler, S. B., Edwards, A. R., Ferris, F. L., Friedman, S. M., Glassman, A. R., Miller, K. M., Scott, I. U., Stockdale, C. R. & Sun, J. K. (2010): Randomized trial evaluating ranibizumab plus prompt or deferred laser or triamcinolone plus prompt laser for diabetic macular edema. *Ophthalmology*, 117, 1064 – 1077.
- Diabetic Retinopathy Clinical Research Network, Gross, J. G., Glassman, A. R., Liu, D., Sun, J. K., Antoszyk, A. N., Baker, C. W., Bressler, N. M., Elman, M. J., Ferris, F. L. 3rd, Gardner, T. W., Jampol, L. M., Martin, D. F., Melia, M., Stockdale, C. R & Beck, R. W. (2018): Five-year outcomes of panretinal photocoagulation vs intravitreal ranibizumab for proliferative diabetic retinopathy: a randomized clinical. *J Am Med Ass Ophthalmol*, 136, 1138 – 1148.
- Early photocoagulation for diabetic retinopathy. ETDRS report number 9. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group (1991). *Ophthalmology*, 98, 766 – 785.
- Fong, D. S., Girach, A. & Boney, A. (2007): Visual side effects of successful scatter laser photocoagulation surgery for proliferative diabetic retinopathy: a literature review. *Retina*, 27, 816 – 824.
- Framme, C., Roider, J., Brinkman, R., Birngruber, R. & Gabel V. P. (2008): Basic principles and clinical application of retinal laser therapy. *Klin Monbl Augenheilkd*, 225, 259 – 268.
- Gabel, V. P., Birngruber, R. & Hillenkamp, F. (1978): Visible and near infrared light absorption in pigment epithelium and choroid. In: Shimizu, K. & Oosterhuis, J. A. (Hrsg.) XXIII Concilium Ophthalmologicum, Kyoto, 1978, International Congress Series No. 450, S. 658 – 622, Excerpta Medica, Amsterdam – Oxford.
- Gabel, V. P., Birngruber, R. & Lorenz, B. (1986): Clinical relevance of a dosage device for laser photocoagulation. *Klin Monbl Augenheilkd*, 188, 263 – 265.
- Inderfurth, J. H., Ferguson, R. D., Frish, M. B. & Birngruber, R. (1994): Dynamic reflectometer for control of laser photocoagulation on the retina. *Lasers Surg Med*, 15, 54 – 61.
- Jain, A., Blumenkranz, M. S., Paulus, Y., Wiltberger, M. W., Andersen, D. E., Huie, P. & Palanker, D. (2008): Effect of pulse duration on size and character of the lesion in retinal photocoagulation. *Arch Ophthalmol*, 126, 78 – 85.
- Jerath, M. R., Chundru, R., Barrett, S. F. Rylander, H. G. 3rd & Welch, A. J. (1993): Reflectance feedback control of photocoagulation in vivo. *Arch Ophthalmol*, 111, 531 – 534.

- Kandulla, J., Elsner, H., Birngruber, R. & Brinkmann, R. (2006): Noninvasive optoacoustic online retinal temperature determination during continuous-wave laser irradiation. *J Biomed Opt*, 11, 041111-1 – 041111-13.
- Kang, H., Su, L., Zhang, H., Li, X., Zhang, L. & Tian, F. (2010): Early histological alteration of the retina following photocoagulation treatment in diabetic retinopathy as measured by spectral domain optical coherence tomography. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 248, 1705 – 1711.
- Kernt, M., Cheuteu, R., Liegl, R. G., Seidensticker, F., Cserhati, S., Hirneiss, C., Haritoglou, C., Kampik, A., Ulbig, M. & Neubauer, A. S. (2012): Navigierte fokale retinale Lasertherapie mit dem NAVILAS<sup>®</sup>-System bei diabetischem Makulaödem. *Ophthalmologe*, 109, 692 – 698.
- Klatt, C., Saeger, M., Oppermann, T., Pörksen, E., Treumer, F., Hillenkamp, J., Fritzer, E., Brinkmann, R., Birngruber, R. & Roider, J. (2011): Selective retina therapy for acute central serous chorioretinopathy. *Br J Ophthalmol*, 95, 83 – 88.
- Koinzer, S. (2014): Optische Kohärenztomografie – hoch aufgelöste Gewebedarstellung, aber keine Histologie! *Klin Monbl Augenheilkd*, 231, 709 – 717.
- Koinzer, S., Baade, A., Schlott, K., Hesse, C., Caliebe, A., Brinkmann, R. & Roider, J. (2015): Temperature-controlled retinal photocoagulation reliably generates uniform subvisible, mild, or moderate lesions. *Transl Vis Sci Technol*, 4 (5), 9.
- Koinzer, S., Caliebe, A., Portz, L., Saeger, M., Miura, Y., Schlott, K., Brinkmann, R. & Roider, J. (2014): Comprehensive detection, grading, and growth behavior evaluation of subthreshold and low intensity photocoagulation lesions by optical coherence tomographic and infrared image analysis, *BioMed Res Int*, 2014, 1 – 10.
- Koinzer, S., Elsner, H., Klatt, C., Pörksen, E., Brinkmann, R., Birngruber, R. & Roider, J. (2008): Selective retina therapy (SRT) of chronic subfoveal fluid after surgery of rhegmatogenous retinal detachment: three case reports. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 246, 1373 – 1378.
- Koinzer, S., Saeger, M., Hesse, C., Portz, L., Kleemann, S., Schlott, K., Brinkmann, R. & Roider, J. (2013): Correlation with OCT and histology of photocoagulation lesions in patients and rabbits. *Acta Ophthalmol*, 91, e603 – e611.
- Koinzer, S., Schlott, K., Portz, L., Ptaszynski, L., Baade, A., Bever, M., Saeger, M., Caliebe, A., Denner, R., Birngruber, R., Brinkmann, R. & Roider, J. (2012 a): Correlation of temperature rise and optical coherence tomography characteristics in patient retinal photocoagulation. *J Biophotonics*, 5, 889 – 902.
- Koinzer, S., Schlott, K., Ptaszynski, L., Bever, M., Kleemann, S., Saeger, M., Baade, A., Caliebe, A., Miura, Y., Birngruber, R., Brinkmann, R. & Roider, J. (2012 b): Temperature-controlled retinal photocoagulation – a step toward automated laser treatment. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 53, 3605 – 3614.
- Lanzetta, P., Dorin, G., Pirracchio, A. & Bandello, F. (2001): Theoretical bases of non-ophthalmoscopically visible endpoint photocoagulation. *Semin Ophthalmol*, 16, 8 – 11.

- Lavinsky, D., Cardillo, J. A., Mandel, Y., Huie, P., Melo, L. A., Farah, M. E., Belfort, R. & Palanker, D. (2013): Restoration of retinal morphology and residual scarring after photocoagulation. *Acta Ophthalmol*, 91, e315 – e323.
- Lavinsky, D., Cardillo, J. A., Melo L. A. S. Jr., Dare, A., Farah, M. E. & Belfort, R. Jr. (2011): Randomized clinical trial evaluating mETDRS versus normal or high-density micropulse photocoagulation for diabetic macular edema. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 4314 – 4323.
- Lavinsky, D., Sramek, C., Wang, J., Huie, P., Dalal, R., Mandel, Y. & Palanker, D. (2014): Subvisible retinal laser therapy: titration algorithm and tissue response. *Retina*, 34, 87 – 97.
- Luttrull, J. K., Musch, D. C. & Spink, C. A. (2008): Subthreshold diode micropulse panretinal photocoagulation for proliferative diabetic retinopathy. *Eye*, 22, 607 – 612.
- Mainster, M. A. (1999): Decreasing retinal photocoagulation damage: principles and techniques. *Semin Ophthalmol*, 14, 200 – 209.
- Maswadi, S. M., Dodd, S., Gao, J. & Glickman R. (2004): Temperature mapping of laser-induced hyperthermia in an ocular phantom using magnetic resonance thermography. *J Biomed Opt*, 9, 711 – 718.
- Meyer-Schwickerath, G. (1954): [Light coagulation: a method for treatment and prevention of the retinal detachment]. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 156, 2 – 34.
- Mojana, F., Brar, M., Cheng, L., Bartsch, D.-U. G. & Freeman, W. R. (2011): Long-term SD-OCT/SLO imaging of neuroretina and retinal pigment epithelium after subthreshold laser treatment of drusen. *Retina*, 31, 235 – 242.
- Muqit, M. M. K., Denniss, J., Nourrit, V., Marcellino, G. R., Henson, D. B., Schiessl, I. & Stanga, P. E. (2011): Spatial and spectral imaging of retinal laser photocoagulation burns. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 52, 994 – 1002.
- Muqit, M. M. K., Marcellino, G. R., Gray, J. C. B., McLauchlan, R., Henson, D. B., Young, L. B., Patton, N., Charles, S. J., Turner, G. S. & Stanga, P. E. (2010): Pain responses of pascal 20 ms multi-spot and 100 ms single-spot panretinal photocoagulation: Manchester Pascal Study, MAPASS report 2. *Br J Ophthalmol*, 94, 1493 – 1498.
- Natural history and clinical management of central retinal vein occlusion. The Central Vein Occlusion Study Group (1997). *Arch Ophthalmol*, 115, 486 – 491.
- Nagpal, M., Marlecha, S. & Nagpal, K. (2010): Comparison of laser photocoagulation for diabetic retinopathy using 532-nm standard laser versus multispot pattern scan laser. *Retina*, 30, 452 – 458.
- Ogata, N., Ando, A., Uyama, M. & Matsumura, M. (2001 a): Expression of cytokines and transcription factors in photocoagulated human retinal pigment epithelial cells. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 239, 87 – 95.

- Ogata, N., Tombran-Tink, J., Jo, N., Mrazek, D. & Matsumura, M. (2001 b): Upregulation of pigment epithelium-derived factor after laser photocoagulation. *Am J Ophthalmol*, 132, 427 – 429.
- Palanker, D., Lavinsky, D., Blumenkranz M. S. & Marcellino, G. (2011): The impact of pulse duration and burn grade on size of retinal photocoagulation lesion: implications for pattern density. *Retina*, 31, 1664 – 1669.
- Parver, L. M., Aufer, C. R. & Carpenter, D. O. (1982): The stabilizing effect of the choroidal circulation on the temperature environment of the macula. *Retina*, 2, 117 – 120.
- Photocoagulation treatment of proliferative diabetic retinopathy: the second report of diabetic retinopathy study findings (1978). *Ophthalmology*, 85, 82 – 106.
- Polhamus, G. D. & Welch, A. J. (1975): Effect of pre-exposure fundus temperature on threshold lesion temperatures in the laser-irradiated rabbit retina. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 14, 562 – 565.
- Pomerantzeff, O., Wang, G. J., Pankratov, M. & Schneider, J. (1983): A method to predetermine the correct photocoagulation dosage. *Arch Ophthalmol*, 101, 949 – 953.
- Preliminary report on effects of photocoagulation therapy. The Diabetic Retinopathy Study Research Group (1976). *Am J Ophthalmol*, 81, 383 – 396.
- R Foundation for Statistical Computing (Hrsg.) (2009): R: A language and environment for statistical computing, Wien, Österreich.
- [Recommendation of the Retinological Society, the German Ophthalmological Society and the Professional Association of Ophthalmologists in Germany (2011): treatment of diabetic maculopathy]. *Klin Monbl Augenheilkd*, 228, 448 – 459.
- Roider, J., Brinkmann, R., Wirbelauer, C., Laqua, H. & Birngruber, R. (1999): Retinal sparing by selective retinal pigment epithelial photocoagulation. *Arch Ophthalmol*, 117, 1028 – 1034.
- Roider, J., Hillenkamp, F., Flotte, T. & Birngruber, R. (1993): Microphotocoagulation: selective effects of repetitive short laser pulses. *Proc Natl Acad Sci USA*, 90, 8643 – 8647.
- Roider, J., Liew, S. H. M., Klatt, C., Elsner, H., Pörksen, E., Hillenkamp, J., Brinkmann, R. & Birngruber, R. (2010): Selective retina therapy (SRT) for clinically significant diabetic macular edema. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 248, 1263 – 1272.
- Roider, J., Michaud, N. A., Flotte, T. J. & Birngruber, R. (1992): Response of the retinal pigment epithelium to selective photocoagulation. *Arch Ophthalmol*, 110, 1786 – 1792.
- Rüfer, F., Flöhr, C. M., Pörksen, E. & Roider, J. (2008): Retinale Laserkoagulation mit dem Pattern Scanning Laser – erster klinischer Erfahrungsbericht. *Klin Monbl Augenheilkd*, 225, 968 – 972.

- Ruggeri, M., Wehbe, H., Jiao, S., Gregori, G., Jockovich, M. E., Hackam, A., Duan, Y. & Puliafito, C. A. (2007): In vivo three-dimensional high-resolution imaging of rodent retina with spectral-domain optical coherence tomography. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 48, 1808 – 1814.
- Saeger, M., Heckmann, J., Purtskhvanidze, L., Caliebe, A., Roider, J. & Koinzer, S. (2017): Variability of panretinal photocoagulation lesions across physicians and patients. Quantification of diameter and intensity variation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 255, 49 – 59.
- Schargus, M. & Schrader, W. F. (2010): Retinale Photokoagulation. Techniken – Indikationen – Anwendungen. *Z prakt Augenheilkd*, 31, 21 – 32.
- Schlott, K., Koinzer, S., Ptaszynski, L., Bever, M., Baade, A., Roider, J., Birngruber, R. & Brinkmann, R. (2012): Automatic temperature controlled retinal photocoagulation. *J Biomed Opt*, 17, 061223-1 – 061223-8.
- Schuele, G., Elsner, H., Framme, C., Roider, J., Birngruber, R. & Brinkmann, R. (2005): Optoacoustic real-time dosimetry for selective retina treatment. *J Biomedical Opt*, 10, 064022-1 – 064022-11.
- Shah, A. M., Bressler, N. M., Jampol, L. M. (2011): Does laser still have a role in the management of retinal vascular and neovascular diseases? *Am J Ophthalmol*, 152, 332 – 339.
- Sigrist, M. W. (1986): Laser generation of acoustic waves in liquids and gases. *J Appl Phys*, 60, R83 – R122.
- Sramek, C., Paulus, Y., Nomoto, H., Huie, P., Brown, J. & Palanker, D. (2009): Dynamics of retinal photocoagulation and rupture. *J Biomed Opt*, 14, 034007-1 – 034007-13.
- [Statement of the German Ophthalmological Society, the Retinological Society and the Professional Association of German Ophthalmologists on therapy for macular oedema in cases of retinal vein occlusion] (2010). *Klin Monbl Augenheilk*, 227, 542 – 556.
- Staurenghi, G., Sadda, S., Chakravarthy, U. & Spaide, R. (2014): Proposed lexicon for anatomic landmarks in normal posterior segment spectral-domain optical coherence tomography. *Ophthalmology*, 121, 1572 – 1578.
- Stefánsson, E. (2006): Ocular oxygenation and the treatment of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol*, 51, 364 – 380.
- Stefánsson, E., Landers, M. B., Wolbarsht, M. L. (1981): Increased retinal oxygen supply following panretinal photocoagulation and vitrectomy and lensectomy. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 79, 307 – 334.
- Velez-Montoya, R., Guerrero-Naranjo, J. L., Gonzalez-Mijares, C. C., Fromow-Guerra, J., Marcellino, G. R., Quiroz-Mercado, H. & Morales-Cantón, V. (2010): Pattern scan laser photocoagulation: safety and complications, experience after 1301 consecutive cases. *Br J Ophthalmol*, 94, 720 – 724.

- Vujosevic, S., Bottega, E., Casciano, M., Pilotto, E., Convento, E. & Miden, E. (2010): Microperimetry and fundus autofluorescence in diabetic macular edema: subthreshold micropulse diode laser versus modified early treatment diabetic retinopathy study laser photocoagulation. *Retina*, 30, 908 – 916.
- Wang, J., Quan, Y., Dalal, R. & Palanker, D. (2017): Comparison of continuous-wave and micropulse modulation in retinal laser therapy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 58, 4722 – 4732.
- Weinberg, W., Gabel, V.-P., Birngruber, R., Lorenz, B. & Müller, W. (1981): Die zeitliche Entwicklung der Weißfärbung in Korrelation zur Schadensausdehnung bei der Photo-koagulation der Netzhaut. In: Jaeger, W. (Hrsg.) *Uveitis*, S. 603 – 606, J. F. Bergmann-Verlag, München.
- Yasui, A., Yamamoto, M., Hirayama, K., Shiraki, K., Theisen-Kunde, D., Brinkmann, R., Miura, Y. & Kohno, T. (2017): Retinal sensitivity after selective retina therapy (SRT) on patients with central serous chorioretinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 255, 243 – 254.

## ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1	S. 11	Versuchsaufbau zur optoakustischen Echtzeit-Temperaturmessung
Abbildung 2	S. 12	Netzhauttemperaturprofil
Abbildung 3	S. 13	Typisches Setting einer retinalen Photokoagulationsbehandlung
Abbildung 4	S. 15	Kartiertes Fundusfarbfoto
Abbildung 5	S. 16	Bestimmung des Fundusdurchmessers der Photokoagulationsläsionen
Abbildung 6	S. 17	IR-Übersichtsaufnahme und OCT-Schnittbild v. l. n. r.
Abbildung 7	S. 19	OCT-Bildausschnitte der Photokoagulationsläsion Nr. 64 (S + 1) im zeitlichen Verlauf der Studie mit Angabe der greatest linear diameters (GLDs)
Abbildung 8	S. 19	OCT-Bildausschnitte einer Bestrahlungsserie (S – S + 4) 1 Stunde nach der Behandlung mit Angabe der greatest linear diameters (GLDs) (Photokoagulationsläsion Nr. 63 – 67)
Abbildung 9	S. 22	Darstellung der OCT-Schadensklassen
Abbildung 10	S. 26	Funduskopische Sichtbarkeitsrate der Photokoagulationsläsionen in Bezug zur OCT-Schadensklasse
Abbildung 11	S. 27	Systematische Darstellung der mittleren greatest linear diameters (GLDs) in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse, Bestrahlungszeit und Bestrahlungsdurchmesser (1 Stunde nach der Behandlung)
Abbildung 12	S. 29	Änderungen des mittleren greatest linear diameters (GLDs) im Zeitverlauf
Abbildung 13	S. 30	Systematische Darstellung der mittleren Herdspitzentemperatur in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse, Bestrahlungszeit und Bestrahlungsdurchmesser
Abbildung 14	S. 32	Mittlere Laserleistung in Strata mit gemeinsamer OCT-Schadensklasse, Bestrahlungszeit und einem Bestrahlungsdurchmesser von 300 µm
Abbildung 15	S. 34	Regressionsanalyse zwischen den in der OCT vermessenen greatest linear diameters (GLDs) und den im Fundusfarbfoto vermessenen Schadensausdehnungen (Fundusdurchmessern) (1 Stunde nach der Behandlung)



## TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1	S. 24	Anzahl der Photokoagulationsläsionen je OCT-Schadensklasse (1 Stunde nach der Behandlung)
Tabelle 2	S. 31	Mittlere Herdspitztemperatur in °C je OCT-Schadensklasse
Tabelle 3	S. 33	Routine-Photokoagulationsläsionen (Patient 1 – 4)

## DANKSAGUNG

Ein herzliches Dankeschön an alle, die mich bei dieser Arbeit begleitet und unterstützt haben.

Herrn Prof. Johann Roider, Direktor der Klinik für Ophthalmologie am UKSH, Campus Kiel danke ich für die Überlassung dieser Arbeit und der damit verbundenen Möglichkeit, Erfahrungen in der wissenschaftlichen Praxis zu sammeln.

Besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. Stefan Koinzer, meinem wissenschaftlichen Betreuer, für die Zusammenarbeit. Er begleitete diese Arbeit mit viel Engagement. Für seine ausgezeichnete fachliche Betreuung, Hilfsbereitschaft und Geduld, die er mir trotz seiner Belastung in der Klinik und der Praxis entgegenbrachte, möchte ich mich ganz herzlich bei Ihm bedanken.

Weiterhin möchte ich Frau Dr. Amke Caliebe für die statistische Beratung recht herzlich danken. Danke auch dafür, dass Sie mich ermutigt haben, diese Arbeit zu Ende zu führen.

Des Weiteren bedanke ich mich bei unseren Kooperationspartnern am BMO und MLL in Lübeck und der Firma Carl Zeiss Meditec AG.

Mein Dank gilt allen beteiligten Patienten, ohne die diese Studie nicht möglich gewesen wäre.

Mein besonderer Dank gilt meinen Eltern, Dr. med. Friederike Walter-Portz und Dr. med. Dipl.-Psych. Hubertus Portz für ihre liebevolle Erziehung und bedingungslose Unterstützung in jeglichen Lebenslagen. Meinen Brüdern, Sebastian und Nathaniel danke ich dafür, dass sie immer für mich da sind und ein offenes Ohr für meine Probleme haben. Ich danke meinem Mann Daniel, der mich stets motiviert und viele Tiefen miterlebt hat. Auch danke ich ihm dafür, dass er mir an unzähligen Wochenenden den Rücken frei gehalten hat. Meinen Kindern Karlsson und Jakob danke ich dafür, dass sie mich tagtäglich verzaubern und mit ihrer kindlichen Unbekümmertheit zeigen, was im Leben wirklich wichtig ist.

Diese Arbeit widme ich meiner viel zu früh verstorbenen Mama.